COUNTWAY LIBRARY
HC 2MSU P

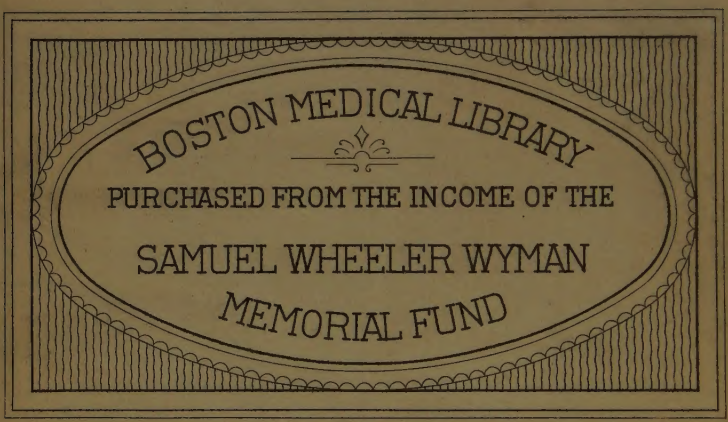
Böhm und Oppel

Taschenbuch der mikroskopischen Technik

Sechste Auflage

München und Berlin
Druck und Verlag von R. Oldenbourg

3.J.97


BOSTON MEDICAL LIBRARY
PURCHASED FROM THE INCOME OF THE
SAMUEL WHEELER WYMAN
MEMORIAL FUND

TASCHENBUCH

der

Mikroskopischen Technik.

Kurze Anleitung

zur mikroskopischen Untersuchung der Gewebe und Organe der Wirbeltiere und des Menschen

unter Berücksichtigung der embryologischen Technik.

Von

Dr. Alexander Böhm und **Dr. Albert Oppel,**

Prosektor. a. o. Professor.

Mit einem Beitrag (Rekonstruktionsmethoden) von Prof. Dr. G. BORN.

Sechste durchgesehene und vermehrte Auflage

von

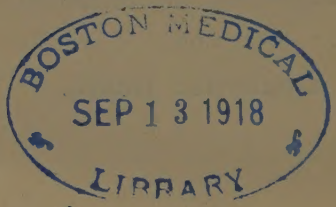
Alexander Böhm.

München und **Berlin.**

Druck und Verlag von R. Oldenbourg.

1908.

13046



Seinem hochverehrten Chef

Herrn Professor Dr. S. Mollier

in Dankbarkeit

Alexander Böhm.

Vorwort zur vierten Auflage.

Seit dem Erscheinen der dritten Auflage unseres Taschenbuches sind drei vorzügliche technische Werke erschienen und zwar von A. Fischer (99), von P. Mayer (Lee und P. Mayer 98) und das leider nicht vollendete von S. Apáthy (96), welche wir an passenden Stellen berücksichtigt haben. Manche kleinere Remerkungen dieser Autoren haben wir auch ohne besondere Namensnennung in die neue Auflage eingesetzt. Da auch sonst die Fortschritte, welche die Technik in den letzten Jahren gemacht hat, berücksichtigt und der Umfang des Büchleins doch nicht zu groß werden sollte, haben wir den das Mikroskop behandelnden ersten Abschnitt in dieser Auflage gestrichen. Wir verweisen auf die diesen Gegenstand behandelnden, im Literaturverzeichnis aufgeführten Werke von Ambronn (92), Czapski (93), Dippel (82 und 98), Neuhauss (98), Petri (96) und A. Zimmermann (95). Das Kapitel »Rekonstruktionsmethoden«, dessen Schwäche in der alten Auflage wir nicht verkannten, haben wir Herrn Professor Dr. G. Born gebeten, zu bearbeiten, und derselbe hat die große Liebenswürdigkeit gehabt, unserer Bitte zu entsprechen.

München, im März 1900.

Alexander Böhm. Albert Oppel.

Vorwort zur sechsten Auflage.

Die vorliegende sechste Auflage ist die zweite von mir allein besorgte. Aus der sehr großen Anzahl technischer Beiträge der letzten $3^1/_2$ Jahre erklärt sich die bedeutende Zunahme des Textes. Das 10. nur kurze Kapitel »Das Mikroskop« habe ich auf vielfachen Wunsch aufnehmen müssen. — Borns »Rekonstruktionsmethoden«, 11. Kapitel, habe ich ohne Bedenken unverändert gelassen; es ist zwar vor 8 Jahren geschrieben, da es aber nur zur Einführung dienen soll, ist es meines Erachtens in der alten Form immer noch am Platze.

München, im Mai 1908.

Alexander Böhm.

Inhaltsverzeichnis.

		Seite
	Allgemeiner Teil	1—104
1. Kapitel.	Einleitung	1
2. »	Fixation für allgemeine Zwecke	6
3. »	Durchtränkung	25
	mit Paraffin	26
	mit Zelloidin	32
	mit Zelloidin-Paraffin	34
4. »	Mikrotom	35
	Beschreibung eines Mikrotoms	36
5. »	Weiterbehandlung des Schnittes	43
6. »	Aufkleben	46
	von Paraffinschnitten	47
	von Zelloidin-Paraffinschnitten	51
	von Zelloidinschnitten	51
7. »	Paraffinbefreiung	56
8. »	Einschließen	56
9. »	Die Färbung	60
	Karminfärbung	66
	Hämatoxylinfärbung	69
	Anilinfarben	76
	Kernfärbung mit Anilinfarben	78
	Mehrfachfärbung	80
10. »	Das Mikroskop	89
11. »	Rekonstruktionsmethoden, von Professor Dr. G. Born in Breslau	94

Seite

Spezieller Teil . . . . . 105—288

1. Kapitel. Zelle 105
2. » Epithelien und Endothelien 114
3. » Blut und Lymphe 120
4. » Bindegewebe und Fett 136
5. » Knorpel 149
6. » Knochen und Zähne 151
7. » Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel 165
8. » Rückenmark, Gehirn und Ganglien 185
9. » Herz, Blutgefäße und deren Verteilung, Lymphgefäße und Saftkanäle 213
10. » Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark . . . 218
11. » Darm und Drüsen 223
12. » Leber 233
13. » Atmungsorgane; Thyreoidea und Thymus . . 239
14. » Niere und Harnwege; Nebenniere 242
15. » Geschlechtsorgane 245
16. » Embryologische Technik 252
17. » Haut, Haare, Nägel und sensible Nervenendigungen in der Haut 270
18. » Auge 279
19. » Ohr 285
20. » Nase 288

Literaturverzeichnis 289
Autorenregister 318
Sachregister 324

BOSTON MEDICAL
SEP 13 1918
LIBRARY

»... je mehr der Mensch sieht, um so bedeutender werden seine Kenntnisse. Aus Büchern lernt man immer nur die Hälfte.«

J. Stinde.

Allgemeiner Teil.

1. Kapitel. Einleitung.

1. Es gibt eine Reihe von Organen und **Geweben,** welche ohne weiteres im **frischen,** resp. **überlebenden** Zustande (d. h. einem lebenden oder eben getöteten Tiere sofort entnommen, ohne vorher mit irgendeinem Reagens in Berührung gekommen zu sein) auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden können. Solche sind beispielsweise die Blutkörperchen, dünne Platten, wie Mesenterium, Omentum mancher Tiere; dünne, durchsichtige Nerven, Blutgefäße, Knorpelstücke, Haare usw.; abgestoßene oder abgeschabte Zellen (Epithelien der Mundhöhle), Spermatozoen, Eier und ähnliches.

2. Die handlichste Größe der **Objektträger** (Glasplatten von Rechteckform) ist das englische Format 76 : 26 mm; **Deckgläschen** (meist 0,1—0,2 mm dicke Glasplättchen) halte man in mindestens zwei Größen vorrätig.

In bestimmten, gelegentlich zu erwähnenden Fällen, ist man genötigt, Objektträger und Deckgläser aus Bergkristall, Marienglas usw. anzufertigen.

3. Das **Töten der Tiere** erfolgt zweckmäßig bei Lufttatmern durch Einatmenlassen von Chloroform (indem man die Tiere etwa mit einem mit Chloroform getränkten Wattebausch unter eine Glasglocke oder in eine luftdicht schließende Kiste verbringt) oder durch Kopfabschneiden unter eventueller Zerstörung des Gehirns und Rückenmarks. Wasseratmer werden in mit Chloroform geschütteltes Wasser verbracht. H. Ranke fand, daß zu Tode chloroformierte

Frösche, der Luft ausgesetzt, Starre bekommen; das ist nicht der Fall bei ätherisierten Fröschen, oder die Starre tritt erst spät auf; amylenisierte Frösche werden überhaupt nicht starr.

4. Bei einigen Tieren, z. B. beim Frosch, kann man an einem noch **lebenden** Tiere zahlreiche **Organe,** resp. Gewebe, beobachten (Lunge, Mesenterium, Zunge, Haut, Pigmentzellen, Nerven, Blutgefäße, Blut usw.); bei demselben Tiere kann man z. B. an einer ausgebreiteten Harnblase glatte Muskeln, Epithelien etc. beobachten.

Andere Organe lassen sich durch verhältnismäßig geringe Eingriffe frisch in Stücke zerlegen, die ohne weiteres beobachtet werden können. Es lassen sich beispielsweise mit Leichtigkeit Sehnen und Muskeln durch Zupfen in Fasern und sog. Fibrillen zerlegen.

5. Beim **Zupfen** bediene man sich zweier in Griffen befestigter Nadeln. Handelt es sich um ein Objekt, welches in der Längsrichtung gefasert werden soll, so lege man dasselbe auf einen Objektträger, setze eine Nadel an einer Stelle des Stückes auf und zerfasere mit der andern, indem man dieselbe zur Längsrichtung des Objekts senkrecht bewegt. Die Nadeln müssen stets rein und spitz sein.

6. Einige Gewebe sind so konsistent, daß man sie mit einem gewöhnlichen Rasiermesser schneiden und in dieser Weise dünne, durchsichtige Lamellen gewinnen kann. Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert Übung, um gute Resultate zu geben.

Eine ungezwungene Handhaltung ist erforderlich. Man fasse das geöffnete Rasiermesser von oben mit dem Daumen auf der der Schneideseite entsprechenden Partie des Griffs und des anliegenden Messereinsatzes mit dem Zeige- und Mittelfinger auf dem der Rückenseite entsprechenden Teil.

Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest zwischen die drei ersten Finger der andern Hand, halte dieselbe so, daß der gekrümmte Zeigefinger parallel der Tischebene steht; man kann nun beim Schneiden den Messerrücken auf den Zeigefinger aufstützen.

Zum Halten des Präparats, wenn es kleine Stücke sind, kann man **Hollundermark** oder in Alkohol gehärtete Leberstücke verwenden.

Man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, d. h. so, daß man mit einer Stelle des Messers zu schneiden beginnt, aber nicht mit dieser Stelle

das Stück durchschneidet, sondern die Klinge während des Schneidens ihrer Längsrichtung parallel am Stück vorbeizieht.

Man schneide stets feucht, d. h. das Stück, welches geschnitten wird, darf nicht trocken sein, und die Klinge muß mit einer geeigneten Flüssigkeit vor jedem Schnitt befeuchtet werden.

Zuerst lerne man kleine, aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst größere.

7. Wohlgeschliffene und gut abgezogene Messer sind das erste Erfordernis für gutes Schneiden. **Schleifen und Abziehen** lernt man leichter und besser durch das Sehen. Das Rasiermesser muß vor dem Gebrauch auf dem Streichriemen abgezogen werden. Hierbei lege man das Rasiermesser mit seiner ganzen Fläche auf den Riemen und ziehe es mit dem Rücken voran über denselben weg, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge des Messers mit dem Riemen in Berührung kommen läßt, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer, ohne es wegzunehmen, über den Rücken und verfahre zurück ebenso mit der andern Seite usw.

8. Durch frische, kompakte Organe, wie Niere, Speicheldrüsen etc., lassen sich mit dem Rasiermesser einigermaßen gute Schnitte bei großer Übung herstellen, die aber dick auszufallen pflegen.

Dünnere, durchsichtige Lamellen durch solche Gewebe lassen sich eher mit einem sog. Doppelmesser anfertigen.

9. Das **Doppelmesser** besteht in der Regel aus zwei Messerklingen an einem Heft; die parallel gestellten beiden Klingen liegen einander an, so daß sie sich an der Spitze berühren und nahe dem Heft etwas weiter voneinander entfernt sind. Durch eine Schraube können die beiden Messer einander mehr oder weniger genähert werden. Wird die Schraube gelöst, so kann das eine Messer an einem Scharnier aufgeklappt werden. Für feine Schnitte kommt nur die Stelle des Messers in Betracht, an der die beiden Klingen sich sehr nahe stehen, ohne sich jedoch zu berühren.

Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt dann in zwei Teile und in eine feine, zwischen den beiden Klingen befindliche

Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube und Aufklappen der einen Klinge unter geeigneter Flüssigkeit voneinander entfernt.

10. Erik Müller (Enzykl. d. mikroskop. Technik) konstruierte einen Apparat nach dem Muster einer Fleischzerkleinerungsmaschine. Dieser Apparat besteht aus einem hohlen Metallzylinder; in der Mitte desselben können mit verschieden großen Löchern versehene Platten angebracht werden, welche dann den Zylinder in zwei Räume teilen. In einem der Räume befindet sich ein Messer (Kreuzmesser), dessen Schneiden durch eine Feder an die Platte angedrückt werden und das in rotierende Bewegung versetzt werden kann. Von der anderen Abteilung wird das zu untersuchende Gewebe durch die Löcher der Platte in die erste Abteilung durchgepreßt und durch das rotierende Messer sukzessive abgeschnitten. Diese kleinen Fetzen können dann gesammelt und in isotonischen Lösungen untersucht werden. Innerhalb dieser Stückchen ist der Bau der Elemente durch das Schneiden kaum alteriert.

11. Will man frische überlebende Organe längere Zeit möglichst unverändert beobachten, so gebraucht man als **Zusatzflüssigkeit** sog. **indifferente Lösungen,** d. h. solche, in welchen erfahrungsgemäß die zu untersuchenden Elemente sich nur wenig verändern. Sie sind in der Regel isotonisch mit den zu untersuchenden Elementen. — Es ist aber sicher, daß auch bei diesen sog. indifferenten Flüssigkeiten von einer Erhaltung der Elemente, wie im Leben, auf die Dauer nicht die Rede ist. Als indifferente Lösungen wendet man an:

12. Humor aqueus, Lymphe, Gewebssaft desselben Tieres;

13. die **physiologische Kochsalzlösung;** man versteht darunter eine ca. $^3/_4$ %ige wässerige Lösung. Isotonisch mit dem menschlichen Blutserum ist die 0,9 %ige, mit dem des Frosches die 0,64 %ige Lösung (E. Engelmann, H. Hamburger.)

14. Statt Kochsalz kann man auch andere Salze, z. B. 0,03 % Calziumchloridlösung zur Herstellung isotonischer Lösungen verwenden (Deetjen.)

Erwähnenswert sind auch folgende Zusatzflüssigkeiten:

15. Das M. Schulzesche (64) **Jodserum** (Amniosflüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod versetzt; ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Teilen Wasser);

16. Kroneckersche Flüssigkeit:

destilliertes Wasser 100 g
Chlornatrium 6 »
Natriumkarbonat 0,06 »

17. Jod-Jodkalium nach Ranvier.

100 Wasser,
2 Jodkalium und
Jod bis zur Sättigung.

Diese Flüssigkeit färbt Glykogen, amyloide Substanzen, auch Fett, eigenartig und wird auch gebraucht bei Untersuchung von Bindegewebe.

Das Ganze ist unmittelbar nach der Mischung trüb, klärt sich aber nach ein paar Stunden und wird filtriert.

18. Die meisten Organe lassen sich im frischen Zustande nicht in dünne Lamellen, weder mit Rasier- noch Doppelmesser, zerlegen; entweder sind sie zu hart, z. B. infolge des Kalkgehaltes, wie Knochen, Zähne, und werden durch Entkalken schnittfähig gemacht, wenn sie nicht geschliffen werden; oder sie sind zu wenig konsistent. Will man sie dann doch in dünne Lamellen zerlegen, so muß man denselben durch künstliche Behandlung (z. B. Entkalken) eine Konsistenz verleihen, die das Schneiden ermöglicht.

Am besten läßt man weiche Organe **gefrieren** oder kleinere Stücke **trocknen** und schneidet sie dann. Ersteres verdient den Vorzug, da das Trocknen eine zwar sehr einfache, aber sehr rohe Methode ist. Trockene Schnitte werden untersucht, indem man denselben Wasser zusetzt, bis sie ihr ursprüngliches Volumen annähernd erreicht haben.

19. Man kann aber die Objekte auf eine andere Weise durch Wasserentziehen, resp. Koagulieren des Eiweißes, härten, nämlich durch **Alkohol.** Man wendet die **Alkoholhärtung** entweder in der Weise an, daß man die nicht zu großen Organstücke erst mit schwachen und dann mit stärkeren Alkohollösungen behandelt (für ein 1 ccm großes Stück mit 50-, 70-, 90%igem Spiritus je 24 Stunden), oder, wenn die Stücke sehr klein sind, nicht über ein paar Millimeter im kleinsten Durchmesser, indem man sie direkt mit 90%igem Spiritus und bei den allerkleinsten unter 1 mm mit absolutem Alkohol härtet.

20. Nebenstehende **Tabelle** zeigt an, wieviel Kubikzentimeter destilliertes Wasser man 100 ccm **Alkohol** von bestimmtem **Prozentgehalt** hinzuzufügen hat, um einen schwächeren zu erhalten.

21. An frischen Objekten und ungefärbten Gefrierschnitten sieht man zwar viele Dinge gar nicht, weil im frischen Zustande die Verschiedenheit des Lichtbrechungsvermögens der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas eine sehr geringe ist. Man sieht aber andererseits vieles, was sich an gewöhnlichen stark aufgehellten Dauerpräparaten ganz der Beobachtung entzieht, da sie deutlich nur schwach lichtbrechende und gefärbte Elemente im Präparat erkennen lassen.

Beim **Gefrieren** kommt es, wie Key und Retzius (82) nachgewiesen haben, durch die sich bildenden Eiskristalle zu Zerreißungen, die beim Auftauen des Schnittes kaum bemerkbar sind, aber doch nicht ganz ausgeglichen werden.

Pleuge (96) empfiehlt, die Stücke vor dem Gefrierenlassen mit Formol zu fixieren (es kann schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde geschnitten werden), für Schnelldiagnosen. Die so behandelten Schnitte sind viel resistenter und deshalb bequemer zu hantieren.

Die Härtung mit Alkohol ist ebenfalls für die Erhaltung feiner Strukturen nicht in allen Fällen geeignet, ja in sehr vielen Fällen, z. B. für Kerne, Nerven, Fett, ganz unbrauchbar.

In folgendem beschäftigen wir uns mit der Angabe von Methoden, welche die Einsicht in die Struktur massiger Gewebe und Organe erlaubt, wobei die Strukturverhältnisse, soviel man beurteilen kann, den im Leben bestehenden nach Möglichkeit nahekommen. Es unterliegt aber keinem Zweifel, und das muß man nicht aus dem Auge lassen, daß so gewonnene feinere Strukturen stets mehr oder weniger Artefakte sind, welche im bestimmten Verhältnisse zum Zustande im Leben, je nach der Vorbehandlung, stehen. Das Studium dieser Artefakte wird wohl die Hauptaufgabe der Technik werden.

2. Kapitel. **Fixation für allgemeine Zwecke.**

22. Wir verstehen darunter jene Fixationsmethoden, die, traditionell, auf viele, ja manche auf alle Organe angewandt werden. Sie leisten, auf verschiedene Organe an-

Prozentgehalt des zu verdünnenden Alkohols.

Prozentgehalt des verdünnten Alkohols.	95°	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°	45°	40°	35°
90°	6,50												
85°	13,36	6,56											
80°	20,16	13,79	6,83										
75°	29,66	21,89	14,48	7,20									
70°	39,16	31,05	23,14	15,35	7,64								
65°	50,66	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15							
60°	63,16	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76						
55°	78,36	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47					
50°	96,36	84,71	73,90	63.04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35				
45°	117,86	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,41			
40°	144,86	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55	12,8		
35°	178,86	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	58,31	43,59	27,6	14,3	
30°	224,4	206,22	188,6	171,1	154,3	136,04	118,9	101,7	84,5	67,5	50,6	33,4	16.8

Beispiel: Man hat 90%igen Alkohol und wünscht 70%igen zu erhalten: Man suche die Vertikalreihe des 90%igen Alkohols, verfolge dieselbe abwärts bis zur Horizontalreihe des 70%igen Alkohols; an dieser Kreuzungsstelle findet man die Zahl 31,05; man muß also 31,05 ccm Wasser zu 100 ccm 90%igen Alkohol hinzusetzen, um 70%igen zu erhalten.

Wir entnehmen diese Tabelle E. de Rouvilles Übersetzung des Taschenbuches ins Französ. 2. Aufl. 1897.

gewandt, nicht gleich Gutes, erlauben aber einen Einblick in den allgemeinen Aufbau derselben.

23. Jede **Fixierung** geschieht in der Regel in der Weise, daß man einem frisch getöteten Tiere entnommene Stücke in bestimmte Flüssigkeiten, sog. Fixierungsflüssigkeiten, legt. Die Größe der einzulegenden Stücke ist eine verschiedene, je nach dem Gewebe und dem Diffussionsvermögen der Fixierungsflüssigkeit. Ist die Dicke des Stückes eine geringe, so kommt die Länge und Breite nicht in Betracht; Beispiel: dünne Membranen, da solche von Fixierungsflüssigkeiten rasch durchdrungen werden. Die Stückgröße kann demnach eine beliebige sein, wenn die kleinste Seite des Stückes die im folgenden meist angegebene Größe nicht überschreitet. Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten her zu ermöglichen, ist es aus naheliegenden Gründen notwendig, den Boden der Gefäße mit Glaswolle, Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf erst die Stücke zu legen. Die Diffusion in die zu fixierenden Stücke geht sehr langsam vor sich, deshalb belasse man die Objekte, wenn sie größer sind, längere Zeit in den Fixierungsflüssigkeiten. Im nachfolgenden sind meist minimale Zeiten angegeben.

24. Man fixiere, wie gesagt, womöglich unmittelbar nach dem Tode. Die meisten Organe verändern sich rasch; so haben Policard und Garnier 15 Minuten **nach dem Tode** relativ große **Veränderungen** an der Niere wahrgenommen. Die rasche Veränderlichkeit von Magen und Pankreas ist allgemein bekannt usw.

Auffallend sind die Befunde von Bizzozero, daß noch 70—80 Stunden nach dem Tode in der Leiche Mitosen zu erkennen sind, und von Burchardt, welcher konstatiert hat, daß allerdings gefäßlose exzidierte Epidermisstückchen, vor Verdunstung und Fäulnis geschützt gehalten, bis zum 12. Tage bei Transplantation anheilen, wie sich die faulenden Organe verändern, s. Falk.

25. Stets hat man, wie schon erwähnt, bei der Fixierung im Auge zu behalten, daß die Flüssigkeiten die Objekte nicht in dem Zustande zu erhalten vermögen, in welchem sie im Leben sind; vielmehr sehen wir ganz veränderte Verhältnisse und suchen aus diesen auf diejenigen zu schließen, welche im Leben herrschen. Der Kern der Zelle reagiert anders wie der Zellkörper.

Obwohl nur die relativ gröberen Verhältnisse durch die Fixierungsflüssigkeiten erhalten werden, spricht man

doch von der Konservierung eines Objektes. — Auch ist zu beachten, daß durch die verschiedenen Reagentien die Strukturverhältnisse in ganz verschiedener Weise verändert werden, wie weiter angegeben wird.

26. Die gröberen Veränderungen, welche die Objekte in den Fixierungsflüssigkeiten und bei der folgenden Nachbehandlung erleiden, lassen sich häufig schon äußerlich an der Änderung in Gestalt, Größe und Farbe des Objektes erkennen. So kann z. B. die **Schrumpfung** (eine infolge der Behandlung entstehende, mit einer Volumenverminderung verbundene Gestaltsveränderung) eines größeren Objektes, bis dasselbe fixiert, nachbehandelt, gefärbt, durchtränkt, geschnitten und eingeschlossen fertig zur Untersuchung kommt, 20% (bei zarten Objekten, z. B. manchen Embryonen bis zu 40%) der ursprünglichen Größe betragen, bei relativ guter Konservierung mikroskopischer Strukturen (s. Tellyesniczky 98, 02). Kaiserling und Germer, auf Grund ihrer Experimente an Blutzellen, behaupten geradezu, daß alle Reagenzien, außer der physiologischen (isotonischen) Kochsalzlösung, schrumpfend einwirken.

27. Bei der Fixierung spielt **Fällung der Eiweißkörper** durch die Fixierungsmittel eine wichtige Rolle. Die »Fällungskraft« zahlreicher Fixierungsmittel hat A. Fischer (99) an verschiedenen Eiweißkörpern untersucht, von denen er folgende drei herausgreift: 1. Nukleinsäure (aus Hefe), 2. Deuteroalbumose, 3. Serumalbumin. Die erstere wurde gewählt wegen ihrer engen Beziehungen zum Chromatin, die Albumose könnte vielleicht als Verdauungsprodukt in gewissen Geweben erscheinen, das Serumalbumin charakterisiert die beiden großen, fixierungstechnisch übereinstimmenden Gruppen der Albumine und Globuline, überhaupt die Gerinnselbildner. Nach dem spezifischen Verhalten dieser Eiweißkörper zu den Fixierungsmitteln und nach der Löslichkeit oder Unlöslichkeit der Niederschläge in Wasser gruppieren sich die wichtigsten Fixierungsmittel folgendermaßen:

I. Nukleinsäure wird nicht oder nur durch starke Konzentration gefällt, Deuteroalbumose wird gar nicht, Serumalbumin sowohl aus alkalischen als saueren Lösungen gefällt.

Salpetersäure, Essigsäure und damit gesäuerter Alkohol. Unzuverlässige Fällungsmittel, die im Überschuß oft wieder lösen.

II. Nukleinsäure wird gar nicht, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden nur aus sauren, nicht aus alkalischen (oder neutralen) Lösungen gefällt. Die Niederschläge sind unlöslich.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Altmanns Gemisch, Müllersche Flüssigkeit, molybdänsaures Ammonium.

III. Nukleinsäure, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden bei jeder Reaktion gefällt.

1. Die Fällung der Nukleinsäure und der Deuteroalbumose ist in Wasser leicht löslich; Serumalbumin wird koaguliert.

   Alkohol, Azeton, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure.

2. Alle Fällungen in Wasser unlöslich.
   Chromsäure, Sublimat, Platinchlorid, Formaldehyd, Flemmingsche Flüssigkeit (Chrom-Osmium-Essigsäure), Hermannsche Flüssigkeit (Platinchlorid-Osmium-Essigsäure).

Hier würden sich noch die meisten Gemische anschließen, z. B. Chrom-Essigsäure, Chrom-Ameisensäure, Chromsäure-Platinchlorid, Sublimat-Essigsäure, kurz alle, die mit Chromsäure oder Sublimat oder Platinchlorid versetzt sind, wenn auch die andere Komponente zu Gruppe I, II oder III gehört.

Eingehend bespricht Fischer (99) auch die Bedeutung des Umstandes, daß Eiweißkörper, welche durch Fixierungsmittel mit geringer Fällungskraft nicht gefällt wurden, bei der Nachbehandlung durch Alkohol gefällt werden können, so daß das schließliche Resultat oft weniger der angewandten Fixierungsflüssigkeit als der Nachbehandlung mit Alkohol zuzuschreiben ist.

Wenn auch nicht alle Beobachtungen Fischers an Eiweißkörpern in vitro ohne weiteres auf die lebende Zelle übertragen werden dürfen, so enthalten sie doch das erste methodische Studium der Fixierungsmittel und lehren auf jeden Fall so viel, daß nicht sämtliche in der Zelle nach Einwirkung von Fixierungsmitteln sichtbare Strukturen, insbesondere jedes Körnchen, auch schon im Leben als vorhanden betrachtet werden müssen. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß alle Strukturen in fixierten Objekten Kunstprodukte, Gerinnungserscheinungen sind; wir können vielmehr behaupten, daß eine große Anzahl Differenzierungen des Protoplasmas und des Kernes, welche wir direkt im Leben zu beobachten imstande sind (Flemming 82), durch gewisse Fixierungsmittel erhalten werden. A. Fischer hat uns für alle Fälle gezeigt, auf welche Punkte bei der Fixierung der Zellen zunächst zu achten ist.

Wir schildern der Reihe nach die heute gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten (vgl. Tellyesniczky, 98 und 02).

28. Alkohol, angewendet in der in § 19 geschilderten Weise, namentlich in stärkeren Konzentrationen (90%ig, absolut), kann, wenn es sich nicht um feinere Strukturverhältnisse handelt, auch als Fixierungsflüssigkeit dienen.

29. Nach Fischer (99) wird der Alkohol infolge seiner großen allseitigen Fällungskraft und der Koagulierung der meisten Eiweißkörper wohl geeignet sein, dauerhafte Niederschläge zu bilden, während er anderseits vollkommen untauglich ist, aus Albumosen und Nukleinsäure bestehende, im Leben noch ganz oder halb gelöste Bestandteile der Zelle in den Präparaten zu erhalten.

30. Ein sehr auffälliges Kunstprodukt nach der Alkoholbehandlung soll hier erwähnt werden: das Protoplasma und die Kernsubstanz entfernen sich innerhalb der Zelle möglichst weit von der Oberfläche des in Spiritus fixierten Stückes und werden in der sonst leeren Zelle wandständig (»die Flucht des Inhaltes der Zelle gegen den Mittelpunkt des Stückes«, Tellyesniczky 98). Diese Veränderungen sind an der Peripherie des Objektes am auffallendsten.

31. Alkohol mit Zusatz von Eisessig bis zu 25% kurze Zeit, nicht über ein paar Stunden angewandt, dringt rasch ein und fixiert besser. Nach der Fixierung überträgt man die Stücke direkt in reinen Alkohol.

32. Chromsäure, gegenwärtig selten allein gebraucht, wird meistens in einer $^1/_3$- bis $^1/_2$%igen wässerigen Lösung angewandt. Die zu fixierenden Stücke, je kleiner, desto besser, nicht über 1 cm im kleinsten Durchmesser betragend, werden in sehr viel Chromsäure, mindestens 50mal mehr Flüssigkeit als das Volumen des zu fixierenden Stückes beträgt, auf 24 Stunden gelegt. Bei größeren Stücken kann die Flüssigkeit nach 24 Stunden gewechselt werden und das Stück in einer frischen, ebenso starken oder etwas stärkeren, etwa $^1/_2$%igen, abermals 24 Stunden und länger verbleiben. Die Stücke werden nun ausgewässert, und zwar in großen Mengen Wassers, das oft gewechselt wird, oder noch besser im fließenden Wasser. Das **Auswaschen** dauert mindestens 24 Stunden; es sollen die Stücke nach dem Auswaschen möglichst wenig von der gelben Chromfarbe mehr besitzen. Behandlung im Dunkeln.

Sehr bequem zum Auswaschen von Präparaten ist eine Spritzflasche von etwas dickerem Glas wie gewöhnlich, in welche die auszuwaschenden Präparate hineingebracht werden und welche dann durch die kurze Röhre mit Gummischlauch an die Wasserleitung angeschlossen wird (Muthmann).

Aus dem Wasser kommen die fixierten, fast farblosen Stücke auf 24 Stunden in 70%igen Spiritus, um nach 24 Stunden in 90%igen Spiritus übertragen zu werden. Die Menge des zu benutzenden Spiritus muß mindestens

das Volumen des Stückes 50mal überschreiten. Letztere Operationen werden im Dunkeln vorgenommen.

Die Chromsäure wurde zuerst von Jacobson und Hannover (40) als Fixationsflüssigkeit empfohlen und wurde eine Zeitlang sehr allgemein benutzt; sie fixiert die chromatischen Substanzen des Kernes in der angegebenen Konzentration ziemlich gut, nicht aber das Protoplasma. Sehr starke und sehr verdünnte Konzentrationen zerstören den Kerninhalt. Den Gebrauch von dünnen Lösungen führte Max Schultze ein.

Die Chromsäure geht mit Eiweiß und Leim schwerlösliche Verbindungen ein und wird deshalb als Fixierungsmittel gebraucht (v. Tappeiner (90)).

33. Chromessigsäure, d. h. eine $^1/_2$%ige Chromsäure mit 5% Eisessig, fixiert besser als Chromsäure allein.

34. Essigsäure allein wird nicht, oder nur in seltenen Fällen, als Fixierungsflüssigkeit angewendet. Sie spielt aber eine wichtige Rolle bei fast allen gut fixierenden Flüssigkeiten. Setzt man verdünnte Essigsäure frischen Präparaten zu, so treten die Kerne deutlich hervor; Essigsäure löst zum Teil das Protoplasma der Zelle, und der Kern wird dunkler infolge der in ihm entstehenden Niederschläge.

35. Das **doppelt chromsaure Kalium** (Synonyme: saures chromsaures Kalium, dichromsaures Kalium, Kaliumbichromat) in von 2 auf 5% ansteigender (d. h. zuerst in 2%iger, beim Wechseln 3%iger, dann 4 etc.) wässeriger Lösung, die Müllersche und Erlickische Flüssigkeit kommen bei der Untersuchung verschiedener Organe in Anwendung. Das Kalium bichromicum und die Müllersche Flüssigkeit werden ziemlich in gleicher Weise benutzt, aber, wie gesagt, Kalium bichromicum in ansteigender Konzentration. Auch hier empfiehlt sich Behandlung im Dunkeln. Die Zellen im ganzen werden gut erhalten.

36. Die Kerne konservieren sich in **Kaliumbichromat** besonders schlecht, werden oft homogen (Tellyesniczky, Held). Burchardt sagt in seiner ausführlichen Arbeit, daß unter den Chromsalzen, z. B. die des Kaliums, Natriums (vgl. Müllersche Flüssigkeit) Litiums usw. kernzerstörend sind; dagegen die Bichromate von Calcium, Barium und Cuprum die Chromatinstruktur des Kernes erhalten. Es gibt eine Anzahl gut fixierender Flüssigkeiten, welche auch die Struktur der Zellkörper erhalten. Ich führe drei davon an: a) Calcium bichr. 4% — 60 Vol.,

Kalium bichr. 5%—30 Vol., Eisessig 5 Vol. b) Barium bichr. 4%—80 Vol., Kalium bichr. 5%—30 Vol., Eisessig 5 Vol. c) Cupr. bichr. 6%—60 Vol., Kalium bichr. 30 Vol., Eisessig 5%.

37. Die **Müllersche** (59) **Flüssigkeit** besteht aus 2 bis $2^1/_2$ g Kalium bichromicum, 1 g Natrium sulfuricum und 100 ccm Wasser.

Nicht allzu große Stücke werden in diesen Flüssigkeiten sehr lange Zeit im Dunkeln fixiert; in der ersten Woche wird die Flüssigkeit alle zwei Tage gewechselt, später jede Woche zweimal; mitteldicke Objekte (wie schon gesagt worden, kommt bei der Beurteilung der Größe des Stückes die kleinste Dimension desselben in Betracht), wie z. B. Rückenmark des Menschen, brauchen mindestens 6 bis 8 Wochen. Fixierungsresultate wie bei Kaliumbichromat allein.

Das Originalrezept lautet: »Ich wende hierzu meist eine Flüssigkeit an, welche doppelt chromsaures Kali und schwefelsaures Natron enthält, von jedem etwa $1^1/_2$% oder von dem einen etwas mehr, von dem andern weniger. Dazu setzt man noch etwas Chromsäure, je nachdem man mehr oder weniger erhärten will.« Müller H. (59).

38. Beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten und bei gleicher Anwendung nimmt die **Erlickische Flüssigkeit** in Anspruch. Sie besteht aus $2^1/_2$ g Kalium bichromicum, $^1/_2$ g Cuprum sulfuricum und 100 ccm Wasser.

Man wechselt die Flüssigkeit alle zwei Tage. Die Fixierung erfolgt in 3—4mal kürzerer Zeit wie bei der Müllerschen.

39. Orths Gemisch besteht aus 9 Teilen Müllerscher Flüssigkeit und 1 Teil Formol. Die Fixierung geht rascher vor sich, und die Resultate der Fixierung sind unvergleichlich besser wie bei Müllerscher Flüssigkeit allein.

40. Tellyesniczky (98) empfiehlt, 3%igem Kalium bichromicum 5 Prozent Essigsäure zuzusetzen, nur 1–2 Tage zu fixieren, in reichlichem Wasser auszuwaschen und die Nachbehandlung mit 15%igem Alkohol zu beginnen (im Dunkeln). Diese **Fixierungsflüssigkeit** fixiert Kerne und Protoplasma gleich gut, sie dringt rasch ein und ist sehr einfach anzufertigen. Die Essigsäure füge man unmittelbar vor dem Gebrauch hinzu.

41. Die **Bedeutung des Essigsäurezusatzes** zu Kaliumbichromat erhellt aus den Untersuchungen von A. Fischer

(99), indem durch Kaliumbichromat zahlreiche Eiweißkörper, namentlich aus alkalischer Lösung, nicht gefällt werden, die alle beim Ansäuern sofort ausfallen. Außerdem diffundiert Essigsäure sehr rasch. Eine ähnliche Rolle spielt die Essigsäure als Komponente anderer Fixierungsflüssigkeiten.

42. Bei langsam fixierenden Flüssigkeiten kommt es klar zum Ausdruck, von welch großem **Einfluß** die **Temperatur** ist. Bei höherer Temperatur braucht man nämlich viel kürzere Zeit wie bei niederer; so kann man mit Erlickischer Flüssigkeit beispielsweise in einem künstlich auf 40° geheizten Raume, vor Verdunstung geschützt, ein Rückenmark des Menschen in 4—5 Tagen genügend fixieren.

Müllersche Flüssigkeit bei einer Temperatur von 30 bis 40° C, also im Thermostat, fixiert in 8—10 Tagen.

Der Flüssigkeit setze man in diesem Falle etwas Kampfer zu (gegen Mikroorganismen). Hier, wie überall, mache man es sich zur Regel, den Boden der Gefäße mit Glaswolle, Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf die zu behandelnden Stücke zu legen, damit sie von allen Seiten von der fixierenden Flüssigkeit umspült werden.

Für allgemeine Zwecke werden in der Regel die fixierten Stücke mit oft zu wechselndem, resp. fließendem Wasser ausgewaschen, bis sie keine Farbe mehr abgeben, 1—2 Tage, dann in 70%igen Spiritus auf 24 Stunden übertragen, dann in 80%igen.

43. Um die lästigen Niederschläge nach der Fixierung mit Erlickischer Flüssigkeit zu beseitigen, genügt nach Löwenthal ein Einlegen derselben vor Behandlung mit Alkohol in ½%ige Chromsäure oder aber in warmes Wasser oder ein schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser (Edinger).

44. Die oben erwähnten Substanzen eignen sich nicht für das Studium der Kerne, da letztere stark angegriffen und deren Bestandteile zum Teil darin gelöst werden. Diese Flüssigkeiten werden gegenwärtig viel weniger wie früher gebraucht, spielen aber noch heute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems und des Auges, eine wichtige Rolle.

45. Man gewöhne sich, mit chromhaltigen Flüssigkeiten im Dunkeln zu fixieren, namentlich ist es absolut nötig, wenn die Stücke in Alkohol kommen. Es bilden sich sonst sehr störende künstliche Pigmente, welche unter Umständen für natürliche gehalten werden können (H. Virchow).

46. Osmiumtetroxyd, Synonyme: Überosmiumsäure. **Osmiumsäure,** wurde auf Veranlassung von F. E. Schulze

von Max Schulze und Rudneff (65) in die Technik eingeführt. Die Osmiumsäure ist sehr teuer, 1 g kostet ca. 5 Mark; sie ist sehr giftig, und die Dämpfe derselben greifen die Schleimhäute stark an. Aus der wässerigen Osmiumsäurelösung bewirken die reduzierenden Agentien (auch Sonnenlicht) das Ausscheiden des metallischen schwarzen Osmiums; dieselbe wird deshalb in schwarzen oder gelben Flaschen aufbewahrt. Fügt man zu 100 ccm der Lösung 10 Tropfen einer konzentrierten Sublimatlösung, so bleibt sie, auch dem Lichte ausgesetzt, unverändert (Paul Mayer 01). Die Osmiumsäure ist in hermetisch verschlossenen, gewöhnlich 0,5 oder 1 g haltigen Gläsern käuflich.

47. Die Überosmiumsäure wird in einer $^1/_2$- bis 1-, ja 2%igen wässerigen Lösung angewandt. Gewöhnlich nimmt man eine 1%ige Lösung. Die Osmiumsäure fixiert momentan, dringt aber nicht tief genug in die zu fixierenden Stücke ein; man wähle deshalb möglichst kleine Stücke, denn bei einem größeren werden bloß die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa $^1/_{10}$ mm tief durch die Osmiumsäure fixiert. Die Osmiumsäure hebt verschiedenes hervor, indem sie gleichzeitig durch Oxydieren die natürlichen Farben verschiedener Gewebe verschieden verändert. So werden die Kerne schmutzig-gelb, Muskeln und elastische Fasern graubraun, Oleinfett, Milchkügelchen und Nervenmark schwarz; es bilden sich dabei keine Myelintropfen, das Mark wird aber sehr brüchig. In einem sehr gut verschlossenen Glase läßt man die Flüssigkeit etwa 24 Stunden einwirken, man spült die Stücke etwa 2 Stunden, auch länger, mit destilliertem Wasser ab und überträgt dieselben direkt in 90%igen Spiritus (einige raten auch bei Osmiumsäure den Gebrauch allmählich verstärkten Alkohols), wo sie bis zum weiteren Bearbeiten verbleiben. Osmiumsäure konserviert die Form der Zelle im ganzen sehr gut, fixiert aber die Strukturen in der Zelle schlecht.

48. Nervenmark schwärzt sich auch an mit Chromsäure und Chromsäuresalzen fixierten Objekten. Auf vorgefärbte Präparate, welche eine geeignete Fixierung erhalten haben, kann die Osmiumsäure ebenfalls angewendet werden.

Die Marksubstanz der Nebenniere schwärzt sich in ihr; die Außenglieder der Stäbchen der Retina des Frosches (nicht der Säugetiere) werden in ihr geschwärzt usw. Das Protoplasma embryonaler Zellen färbt sich viel intensiver wie das der fertigen (s. Nervensystem).

49. Die Osmiumsäure wird auch in Dampfform angewandt (Hensen), namentlich, wenn sehr kleine Gewebsteile oder Organismen sehr rasch getötet werden sollen.

Die **Osmiumsäure-Räucherung** geschieht so, daß in ein Glas auf den Boden einige Tropfen Osmiumsäure gebracht werden. Man lege das Objekt oder hänge es mit einem Faden in das Glas, so daß das Objekt selbst von der Osmiumsäure nicht berührt wird, und bedecke das Glas mit einem Glasdeckel.

50. Die mit Osmiumsäure fixierten Objekte lassen nach Flemming auch eine Nachfärbung mit Hämatoxylin oder mit Alaunkarmin zu, besonders schön werden Präparate der Retina.

51. O. Schultze färbt mit guten Resultaten die mit 0,5 % Osminsäure- und dann mit 1 %iger Kaliumbichromatlösung mehrere Tage behandelten Stücke mit Alaun-cochenille; die Stücke werden aus dem Kaliumbichromat direkt in die Farbe übertragen, und es färben sich die Kerne besonders gut.

52. Osmiumsäure allein ist nach A. Fischer (99) ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel für Eiweißkörper. Sie erzeugt nur dann Niederschläge in den Zellen (Gerinnungen), wenn sie sauer reagieren; alkalischem Zellinhalt gegenüber wird sie stets versagen. Bei geringem Ansäuern mit Essigsäure fallen die genannten Stoffe sofort in wasserunlöslicher Form aus. Bei der in § 53 erwähnten Flüssigkeit z. B. werden die zu fixierenden Elemente durch die rasch diffundierende Essigsäure angesäuert, bevor die Wirkung der Osmiumsäure zur Geltung kommt.

53. Als eine ausgezeichnete Fixierungsflüssigkeit für Kerne und Protoplasmastrukturen wird die **Chrom-Essig-Osmiumsäure-Mischung** von **Flemming** (82, 84 und 95 a) angesehen. Die Formel für diese heißt: Chromsäure 1 %ig 15 Vol., Osmiumsäure 2 %ig 4 Vol., Eisessig 1 Vol.

54. Die Anwendung dieser Flüssigkeit ist eine sehr ausgiebige, und zwar für die Gewebe der erwachsenen und sich entwickelnden Tiere. Man braucht nicht sehr viel von der Flüssigkeit beim Fixieren immer kleiner Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, anzuwenden. Man läßt die Flüssigkeit wenigstens 24 Stunden, besser länger, selbst wochenlang einwirken, wäscht die so fixierten Stücke 24 Stunden in fließendem Wasser aus und überführt sie dann durch 70 %igen und 80 %igen Spiritus, je 24 Stunden angewendet, in 90 %igen Spiritus. Flemmingsche Flüssigkeit fixiert Kern und Protoplasma gleich gut, auch die feinsten Struk-

turen. Weitere Studien werden zeigen, ob letztere Behauptung berechtigt ist.

55. Die beste Färbung der Schnitte nach dieser Fixation ist die mit Safranin. Alles das, was mit Safranin bei einer bestimmten Anwendung desselben intensiv rot gefärbt bleibt, wird für **Chromatin** gehalten.

56. Eine schwächere, von **Flemming** angegebene **Lösung** ist folgende: auf 100 g Wasser: Chromsäure $^1/_4$ g, Osmiumsäure $^1/_{10}$ g, Eisessig $^1/_{10}$ g. Dieses schwächere Gemisch wird aus dem in § 53 erwähnten, durch Verdünnung mit dem doppelten Volumen Wasser hergestellt; es wird nur selten angewendet.

57. Folsche (84) Mischung: Osmiumsäure 1%ig 2 Vol., Chromsäure 1%ig 25 Vol., Eisessig 2%ig 5 Vol., Wasser 68 Vol. Anwendung wie die der Flemmingschen Lösung.

58. Hermannsche Mischung. Ebenfalls mit ausgezeichnetem Erfolg wendet man Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig (1%ige wässerige Platinchlorid-Lösung 15 ccm, 2%ige Osmiumsäure 4 ccm und Eisessig 1 ccm) an. Behandlung wie mit Flemmingscher Flüssigkeit (Hermann [93]).

59. Flemming (91) hat darauf aufmerksam gemacht, daß die chromatischen Substanzen in Hermannscher Flüssigkeit etwas quellen, und deshalb z. B. die frühen Verdoppelungsstadien der Chromosomen an in ihr fixierten Objekten nicht zu sehen sind.

Nach dieser, sowie der Flemmingschen Lösung und ähnlichen Osmiumgemischen, kann roher Holzessig in Anwendung kommen. Man läßt die Objekte im letzteren 12—24 Stunden liegen, wäscht kurz aus und behandelt mit Alkohol. Es tritt schon hierbei eine eigentümliche Färbung des Objektes ein, welche eine nachträgliche Färbung desselben oft entbehrlich macht (Hermann [93]).

Von den von vom Rath (95) angegebenen Flüssigkeiten erwähnen wir drei: §§ 60, 61, 62.

60. Die **Pikrinosmium-Essigsäure.** Zu 1000 ccm kalt gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 1 g Osmiumsäure und nach einigen Stunden 4 ccm Eisessig hinzugefügt. Fixierung je nach der Größe des Objektes $^1/_4$—1 oder 24—48 Stunden, dann direkt in 75%igen Alkohol. (Ein anderes Rezept lautet: 200 ccm Pikrinsäurelösung, 12 ccm einer 12%igen Osmiumsäure und 2 ccm Eisessig.) Lange färben. Die Kerne und das Protoplasma werden gleich gut fixiert.

61. Die **Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure.** Zu 200 ccm wässeriger konzentrierter Pikrinsäure gieße man 25 ccm einer 2%igen wässerigen Osmiumsäure, ferner 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst und schließlich 2 ccm Eisessig zu (starke Lösung). Will man eine schwache Lösung, so nehme man nur 12 ccm einer 2%igen Osmiumsäure an Stelle von 25 ccm. Einwirkung, je nach Größe des Objektes $^1/_4$ Stunde bis tagelang, im letzteren Fall muß die Flüssigkeit gewechselt werden. Übertragen in 75, dann in 95%igen und absoluten Alkohol nach eventueller 12—24 stündiger Behandlung mit unreinem Holzessig. In Safranin und dann Hämatoxylin lange färben, auch ungefärbt untersuchen.

62. Pikrin-Sublimat-Osmiumsäure. Man gebe zu 100 ccm wässeriger Pikrinsäure 100 ccm Sublimatlösung und dann 20 ccm 2%iger Osmiumsäure. (Man kann auch noch 2 ccm Eisessig hinzufügen.) Nachbehandlung mit rohem Holzessig oder Tannin, Entfernung von Sublimatniederschlägen mit Jodalkohol. Lange färben.

63. Sublimat (Hydrargyrum bichloratum, Quecksilberchlorid, in dieser Gebrauchsart eingeführt von A. Lang [78]. 1 Teil löst sich in 16 Wasser, oder 4 Alkohol absolutus oder 4 Äther; Lösungen von Sublimat in Wasser sind haltbarer bei Kochsalzzusatz) wird für gewöhnlich in einer gesättigten Lösung angewandt. Man stellt diese am besten folgendermaßen her: Man nehme etwa 75 g Sublimat auf 1000 Wasser und löse es durch Erwärmen, filtriere die warme Lösung und lasse sie erkalten. Haben sich am Boden des kalt gewordenen Gefäßes weiße Kristallnadeln gebildet, so ist die überstehende Flüssigkeit als eine gesättigte zu betrachten. Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, werden in dieser Flüssigkeit je nach der Größe 3 bis 24 Stunden fixiert, hierauf mit 70%igem Spiritus 24 Stunden lang behandelt, auf ebenso lange Zeit in 80%igen übertragen und in 90%igem Spiritus bis zur Bearbeitung aufbewahrt. Vor der Behandlung mit Spiritus kann auch kurze Zeit mit Wasser oder besser mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen werden.

64. Da die Lösung eine gesättigte, auch in den Gemischen eine sehr starke ist (dieses gilt auch für Sublimatgemische, s. u.), so kommt es namentlich bei Temperaturschwankungen im Zimmer zur Bildung von **Kristallen** in den zu fixierenden Stücken. Dabei kommt es nur selten zu bemerklichen Zerreißungen und Dislokationen in den Geweben. Die Kristalle erscheinen bei durchfallendem Lichte schwarz und verdecken so das Darunterliegende; es ist also wünschenswert, diese Kristalle zu entfernen, ohne

dabei die fixierten Gewebe irgendwie zu alterieren. Man tut am besten, wenn man kleine Mengen (einige Tropfen auf 100 ccm) einer Jodtinktur P. Mayer [87] (eine gesättigte alkoholische Jodlösung) oder Jodjodkalium in Wasser (s. § 17) zu dem wasserentziehenden Spiritus hinzusetzt. (Ich ziehe die Jodtinktur vor). Es darf Jod so lange hinzugesetzt werden, bis die gelbe Farbe der Flüssigkeit nicht mehr schwindet, und zwar kann dieser Zusatz sowohl zu dem 70%igen Spiritus, als zu dem in Folge anzuwendenden erfolgen. Der nicht selten entstehende rote Niederschlag nach dem Gebrauch der Jodlösungen löst sich in Jodkalium. Die störenden Sublimatkristalle in den fixierten Stücken werden dadurch entfernt.

65. Es wird oft empfohlen, die Sublimatkristalle erst auf Schnitten zu entfernen; Spuler (03) rät unter allen Umständen an, die Entfernung der Kristalle in Stücken vorzunehmen.

66. Für Sublimat hat man metallene Instrumente zu meiden; man verwende Hornlöffel, Glasnadeln und Holzstäbchen. Sublimat läßt die meisten Färbungen zu, die Anilinfarben nicht ausgeschlossen; neben den Schnittfärbungen sind besonders die Stückfärbungen, z. B. mit Boraxkarmin und Parakarmin vor dem Schneiden zu empfehlen. Sublimat allein verursacht Protoplasmaschrumpfungen, soll aber Kerne besser, als in Verbindung mit anderen Stoffen, konservieren.

67. Eine raschere Fixation erhält man bei Anwendung einer auf etwa 40° C erwärmten Sublimatlösung (im Thermostat). Stärkere Erhitzung auf die Koagulationstemperatur des Eiweißes, oder gar bis zum Kochen, geben auch für kleinere Objekte weniger reine Resultate, da hier mehr die Wärme, als die Wirkung des Sublimats allein zur Geltung kommt.

68. Sublimat-Kochsalzlösung; statt Wasser nehme man 0,75% Kochsalzlösung. Anwendung wie Sublimatwasser.

69. »In der mit **Sublimat** gesättigten 4,5%igen **Rohrzuckerlösung** haben wir eine für Warmblüter isotonische Fixierungsflüssigkeit gefunden, in der das Volumen der Organe so gut wie unverändert bleibt.« Stoelzner.

70. Sublimatalkohol: 3 bis 4 g Sublimat, 0,5 g Kochsalz, 100 ccm 50%iger Spiritus, 12 bis 24 Stunden fixieren, dann Alkohol mit Jodzusatz etc., wie oben.

71. Sublimat-Eisessig (Lang). Eine gegenwärtig viel gebrauchte Flüssigkeit, welche für embryonales Gewebe und für wenig Bindegewebe enthaltende Organe Vorzügliches leistet. Man nimmt eine gesättigte wässerige Sublimatlösung und fügt, je nach Umständen, 5 bis 10 % Eisessig hinzu. Nach 2 bis 3 Stunden (auch länger) wird in schwachen Alkohol (35 %) übertragen, welcher allmählich durch stärkeren ersetzt wird. Bei größeren Stücken ist die Nachfixierung nach § 63 oder 68 anzuraten. Wird viel gebraucht für Kern- und Protoplasmastudien.

72. Sublimat-Chromsäure (Lo Bianco). Konzentrierte wässerige Sublimatlösung und 1 %ige Chromsäure werden im Verhältnis von 2 Vol. zu 1 Vol. gemischt. Darin wird, je nach der Größe des Objektes, 2 bis 4 Stunden fixiert, dann wird mit Wasser abgespült und in 70 %igen Alkohol mit Jodzusatz wie in § 63 übertragen. Nur für kleine Objekte nicht über $^1/_3$ cm im Durchmesser. Die Methode wird für spezielle Zwecke angewandt.

73. Zenkersche Flüssigkeit. Zu 100 ccm Müllerscher Flüssigkeit fügt Zenker (94) 5 g Sublimat und 5 ccm Eisessig hinzu. Die Stücke werden in diesem Gemisch je nach der Größe bis zu 24 Stunden belassen, mit fließendem Wasser ausgewaschen und allmählich in starken Alkohol überführt. Die Zenkersche Flüssigkeit dringt sehr leicht in die Gewebe und fixiert Kern- und Protoplasmastrukturen gleich gut, ohne hierbei das Färbungsvermögen der Elemente zu beeinträchtigen (siehe auch Mercier [94] und Spuler [03]).

74. Helly nimmt statt Eisessig 5 ccm Formol. Seine **Flüssigkeit** soll schneller wie die vorige eindringen, man darf sie aber nicht länger als 6 Stunden einwirken lassen, womöglich im Thermostat. Größere Stücke fixiert man mit Müllerscher Flüssigkeit nach. Sorgfältiges Waschen mit gewöhnlichem und dann mit destilliertem Wasser folgt nach.

75. Alle sublimathaltigen Fixierungsflüssigkeiten können Niederschläge geben, welche zu zahlreichen Mißverständnissen in vielen Arbeiten geführt haben. Das Studium dieser Niederschläge ist demnach unentbehrlich.

76. Eine **2—3 %ige Salpetersäure** (gemeint ist Acidum nitricum purissimum mit 70 % Säuregehalt und mit 1,40 spezifischem Gewicht) auf kleine Stücke angewandt, liefert sehr Gutes; die Kernstrukturen namentlich erhalten sich gut. Man fixiere nicht über 6 Stunden und übertrage die Objekte direkt in 70 %igen Spiritus, welcher nach

24 Stunden mit 80%igem und nach abermals 24 Stunden mit 90%igem vertauscht wird. 5%ige und stärkere Lösungen verursachen Schrumpfungen, besonders an der Oberfläche des eingelegten Stückes; Chromatin erscheint vakuolisiert (Tellyesniczky).

77. Kalt gesättigte wässerige **Pikrinsäure**-Lösung (es löst sich ungefähr 1 g Pikrinsäure in 100 ccm kalten Wassers) allein kann mit Erfolg für kleinere und auch mittelgroße Objekte als Fixierungsflüssigkeit angewandt werden. Man kann sie, je nach der Größe des Objektes, einige Tage und selbst Wochen wirken lassen, auswaschen mit Spiritus von 70%. Letztere Prozedur, wenn man sie bis zur Entfärbung der Objekte durchführen will, ist kostspielig. Färbung mit Hämatoxylin, Karmin usw.

Pikrinsäure (allein oder in Kombination mit Überosmiumsäure) wurde zuerst von Gasser (78) empfohlen.

Bei Pikrinsäurefixierung erscheinen die ruhenden Keime oft homogen, Mitosen dagegen konservieren sich besser. Pikrinsäure gibt mit basischen Anilinfarben Niederschläge, keine aber mit sauren.

78. Für Organe, die nicht viel Bindegewebe enthalten, und namentlich für embryologische Zwecke, wendet man die **Pikrin-Schwefelsäure** von Kleinenberg (s. in Foster und Balfour 76) resp. die **Pikrin-Salpetersäure** von Paul Mayer (81), an. Die erstere Flüssigkeit wird in folgender Weise dargestellt: Man nimmt eine gesättigte Pikrinsäurelösung in Wasser und bringt 1 Volumen konzentrierte Schwefelsäure in 100 Pikrinsäure, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit zweifachem Volumen Wasser versetzt.

79. Die Pikrin-Salpetersäure wird in der Weise bereitet, daß man zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure zusetzt; es bildet sich nach und nach ein Niederschlag, der durch Filtrieren entfernt wird. Die so gewonnene Flüssigkeit ist nun zum Gebrauche fertig.

Es werden möglichst kleine Stücke, auf keinen Fall über $^1/_2$ cm Seite, in einer der beiden zuletzt genannten Flüssigkeiten nicht viel über 3 Stunden belassen. Die intensiv gelb gewordenen Stücke kommen in 70%igen Spiritus (Wasser darf nicht in Anwendung kommen) auf 24 Stunden und werden dann mit oft zu wechselndem 90%igem Spiritus gewaschen, bis die gelbe Farbe fast vollständig verschwindet. Pikrin-Schwefelsäure und Pikrin-Salpetersäure fixieren die Mitosen besonders gut. Man färbt

mit besonderem Erfolg Schnitte, so fixierten Präparaten entnommen, mit Hämatoxylinpräparaten.

80. Pikrinsublimat. Rabl (94) empfiehlt folgendes Gemisch: konz. wässerige Sublimatlösung 1 Vol., konz. wässerige Pikrinsäurelösung 1 Vol., Aqua dest. 2 Vol.; Fixierung 12 Stunden; dann ein paar Stunden in Wasser, dann in Alkohol von anfangs schwacher, jedoch rasch ansteigender Konzentration, so daß das Präparat schon nach etwa 24 Stunden in starkem, 80 bis 90 %igem Alkohol liegt. Jodtinkturzusatz zum absoluten Alkohol. Speziell für Embryonen, namentlich ältere, auch für Keimscheiben.

Schaffer (96) empfiehlt diese Lösung unverdünnt (also Sublimatlösung 1 Vol., Pikrinsäurelösung 1 Vol.) für Gewebe und Organe. Das Auswaschen nach der Fixierung (12—48 Stunden) soll unterbleiben, vielmehr kommen die Stücke direkt in Alkohol, dem man Jodtinktur und Lithionkarbonat zur Entfernung des Sublimats und der Pikrinsäure zufügt.

81. Perényische (82) **Flüssigkeit** hat folgende Zusammensetzung: Salpetersäure von 10 % 40 ccm, abs. Alkohol 30 ccm, wässerige Chromsäure von $^1/_2$ % 30 ccm; sie fixiert kleine Objekte in wenigen Stunden; Auswaschen in 70 %igem Spiritus. Das Protoplasma wird gut erhalten, ebenso die Chromatinfäden; das Achromatin löst sich auf.

Für die Fixation sowohl chromatischer, wie achromatischer Figuren hat Rabl (85) folgende zwei Flüssigkeiten empfohlen:

82. Die **Chrom-Ameisensäure** wird in der Weise bereitet, daß man zu 100 ccm einer $^1/_3$ %igen Chromsäure-Lösung 2—3 Tropfen Ameisensäure zusetzt. Möglichst kleine Stücke werden, auf 12—24 Stunden in diese Flüssigkeit gebracht, ebenso lange Zeit mit Wasser gewaschen. Dann werden sie in 60 bis 70 %igen Spiritus auf 24—36 Stunden übertragen und kommen direkt in absoluten Alkohol. (Die chromatischen Figuren quellen in dieser Lösung etwas auf.)

83. In analoger Weise für dieselben Zwecke wird eine $^1/_3$ %ige **Platinchlorid-Lösung** angewandt. Sie wird weder durch Licht, noch Wärme reduziert. (Dieses Fixierungsmittel bewirkt eine geringe Schrumpfung der chromatischen Fäden.)

84. Platinchlorid-Sublimat. Rabl (94): Platinchloridlösung 1 %ig 1 Vol., Sublimatlösung konz. wässerige 1 Vol., Aqua destill. 2 Vol.

Behandlung wie bei Pikrinsublimat (siehe § 80).

Große Quantitäten Fixierungsflüssigkeit! Geeignet besonders für Embryonen.

85. Sehr rasch eindringende Gemische, welche Kernstrukturen gut fixieren, sind: **Carnoysche Flüssigkeit,**

welche aus 10 ccm Eisessig, 60 ccm absolutem Alkohol und 30 ccm Chloroform besteht, und das **Gilsonsche Gemisch**; Alkohol, Chloroform und Eisessig zu gleichen Teilen mit Sublimat in konzentrierter Lösung. Die fixierten Objekte werden direkt in starkem Alkohol weiterbehandelt.

86. Trichloressigsäure (Holmgren, Heidenhain 05) fixiert gut in 5—10%iger Konzentration und in kurzer Zeit, da sie rasch eindringt. Nach der Fixierung behandle man die Stücke direkt mit absolutem Alkohol, den man oft wechselt, vermeide das Wasser, da in diesem Bindegewebe stark quillt.

87. Friedenthal und Pohl nehmen konzentrierte Uranylazetatlösung; 50%ige Trichloressigsäure und destilliertes Wasser zu gleichen Teilen, »ein Fixationsgemisch, das aus theoretischen Gründen bei guter Fixation alle bisherigen Fixationsmittel an Tiefenwirkung übertreffen muß.« Pohl hat auch dieses Gemisch mit gutem Erfolge angewandt. Nach der Fixierung wird mit Wasser gewaschen (bei reiner Trichloressigsäure ist das ausgeschlossen) und dann mit Alkoholen von steigender Konzentration nachbehandelt. Das Friedenthalsche Gemisch entkalkt.

88. Formol, eingeführt von F. Blum, dessen Vater und Hermann (das käufliche Formol enthält 40% Formaldehyd), wird für mikroskopische Zwecke meist in der Konzentration von 1 Volumen Formol auf 10 Volumina Wasser angewandt. Man läßt die Objekte in Formol 12 Stunden oder länger, wäscht sie in fließendem Wasser und überführt sie allmählich in 80%igen Spiritus.

Diese Flüssigkeit eignet sich vorzüglich zur Konservierung für makroskopische Zwecke, da sie die Formen und natürlichen Farben gut erhält. Für histologische Zwecke hat sich diese Lösung nicht in allen Fällen bewährt.

Fischer (99) meint, die gebräuchliche Konzentration wäre viel zu schwach und sieht die 25%ige Formollösung als die rationellste an.

Formol ist auch insofern von Wert, als Präparate, welche mit der Golgischen oder Weigertschen Methode behandelt werden sollen, in Formol vorher längere Zeit aufbewahrt werden können. In Formol fixierte Objekte eignen sich fürs Schneiden auf dem Gefrier-Mikrotom. Es lassen sich daraus viel dünnere Schnitte wie aus frischen Stücken gewinnen und, wie schon bemerkt, sind die

Schnitte resistenter wie die aus frischen Geweben hergestellten. Daß dabei die eigentliche Absicht, Schnitte, welche mit keiner Fixierungsflüssigkeit in Berührung kamen, zu gewinnen, verloren geht, ist selbstverständlich. Eiweißkörper werden durch Formol nicht gefällt, aber gehärtet. Hämoglobin kann sich in Methämoglobin, ev. in Hämatin verwandeln, auch in den Kern diffundieren. Die Beurteilung des Pigments ist dadurch erschwert (Weigert 93, Browicz 00). Formol wird oft in Verbindung mit anderen Flüssigkeiten kombiniert. Formol soll sehr rasch diffundieren (vgl. Artikel Formaldehyd von F. Blum in der Enzykl. d. mikrosk. Technik).

89. Betreffend die Darstellung histologischer Feinheiten mit **Lysol** in 10%iger Lösung (ev. Lysol 10, Aq. 60, Alk. 30; oder Lysol 10, Aq. 50, Alk. 30, Glyzerin 10) an frischen Geweben (Spermatozoen, Haare, Auge, Niere, Epithelzellen, glatte und quergestreifte Muskelfasern, Nerven, Bindegewebe, hyaline Knorpel, Knochen, verhornte Epithelien) verweisen wir auf Reinke (93) und A. Fischer (99, pag. 9).

90. Deetjen (04) hat als Vehikel für Fixierungsstoffe 0,03—0,05 **Kalziumchloridlösung** empfohlen.

91. Man hat auch Azeton sehr kurze Zeit, nicht über eine Stunde angewandt, als Fixierungsmittel empfohlen. Dann werden die Stücke in Xylol gebracht, um durchtränkt zu werden (s. weiter unten [Brunk, Sitten].

92. Rudnew (07) legt frische Organe in eine dünne Zelloidinlösung (3. Lösung, s. unten) und beläßt sie darin längere Zeit, Wochen. Zelloidin-Alkohol-Äthermischung fixiert, wird dabei dicker, so daß die fixierten Stücke schließlich eingebettet werden können. Die Fixierung, namentlich des Nervensystems, ist gut und die Färbbarkeit der Schnitte ausgezeichnet (vgl. Zelloidineinbettung).

93. Hat man Objekte nach den in diesem Kapitel gegebenen Vorschriften fixiert und nachbehandelt, so können die in Alkohol befindlichen Präparate, wie dies in den folgenden Kapiteln geschildert wird, durchtränkt und geschnitten werden. Bleiben aber solche Präparate längere Zeit im Alkohol liegen, so gehen sie noch weitere bemerkbare Veränderungen ein, manche Objekte werden z. B. so hart, daß sie nur schwer zu schneiden sind. Es kann daher unter Umständen vorteilhaft sein, Material, welches man nicht sofort schneiden will und für welches man bei längerem Verweilen in Alkohol Schaden fürchtet, sofort mit Paraffin zu durchtränken oder, was weniger sicher ist,

wegen der Schrumpfung, in **Paraffinum liquidum** (Samassa) überzuführen und darin aufzubewahren. Man verfährt dabei nach den im folgenden Kapitel angegebenen Regeln.

Weitere Fixierungsflüssigkeiten, mehr spezieller Natur, findet man an geeigneten Stellen erwähnt.

3. Kapitel. **Durchtränkung.**

94. Fixierte Objekte besitzen nicht immer die zum Schneiden nötige Konsistenz, manche sind zu zart, als daß man sie überhaupt mit der Hand anfassen könnte. Man emanzipiert sich von der Konsistenz des Objekts, indem man dasselbe mit einem Medium durchtränkt, welches nachher erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Durchtränkungsmasse allein, vorausgesetzt, daß das Objekt nicht härter als die Durchtränkungsmasse ist. Die gebräuchlichsten Durchtränkungsmassen sind Paraffin und Zelloidin.

95. Paraffin als Einschmelzungsmethode wurde von Klebs (89), Kollodium und dann Zelloidin von Duval (79) und Schiefferdecker (82) empfohlen.

96. Für die Mehrzahl der bei histologischer und embryologischer Untersuchung verfolgten Zwecke ist **Paraffin** das geeignetste Durchtränkungsmittel; Paraffin ist unentbehrlich, wenn es sich darum handelt, Serien dünner Schnitte durch kleine Objekte, z. B. Embryonen und Eier, auf Objektträger nach den später zu erörternden Methoden sicher und in einfacher Weise aufzukleben und durch verschiedene Färbungen und sonstige spezielle Behandlung für Untersuchungen in geeigneter Weise vorzubereiten.

97. Das Durchtränken mit **Zelloidin** ist bei großen Stücken (2 cm Seite und darüber) vorzunehmen, aber auch bei kleineren, die aus Geweben verschiedener Konsistenz bestehen oder zu hart sind, um in Paraffin geschnitten zu werden: Epidermis, entkalkter Knochen, dicke Schichten glatter Muskulatur; für Erforschung der zentralen nervösen Organe mit einigen Methoden sowie für einige andere Zwecke ist Zelloidin schwer zu entbehren. Mit Zelloidin durchtränkte Stücke lassen sich nur angefeuchtet und in der Regel nicht so dünn wie die mit Paraffin durchtränkten schneiden.

98. Die **Paraffindurchtränkung** hat so zu geschehen, daß alle kleinsten Bestandteile des Objekts von Paraffin durchdrungen sind.

Würde man einfach das Objekt aus dem Alkohol in geschmolzenes Paraffin übertragen, so würde das Paraffin in absehbarer Zeit nicht eindringen, da es sich mit Alkohol nicht mischt; ließe man dann das Ganze erstarren, so würde das Stück nur eingeschmolzen, aber nicht durchschmolzen oder durchtränkt sein. Man hat daher, ehe man das Objekt in das Paraffin bringt, dasselbe in eine Flüssigkeit zu bringen, welche sich einerseits mit Alkohol, anderseits mit Paraffin mischt.

99. Solcher gibt es eine ganze Reihe, z. B. **Toluol, Xylol, Schwefelkohlenstoff** (außerordentlich feuergefährlich), M. Heidenhain, **Azeton, Chloroform,** dann verschiedene **Öle, Terpentinöl, Bergamottöl** (ist teuer), **Zedernholzöl.** Giesbrecht hat Chloroform als wertvolle Zwischenflüssigkeit zuerst empfohlen.

Soweit diese Flüssigkeiten, vor allem Chloroform, eines für das andere angewandt werden können, sprechen wir der Einfachheit halber in der Regel nur von **Xylol.** Für zarte Objekte ist Chloroform vorzuziehen.

100. Es ist zu beachten, daß sich Xylol mit Wasser fast gar nicht mischt, es darf daher das Objekt nicht aus dem 90%igen Alkohol in Xylol gebracht werden, sondern es muß erst wasserfrei gemacht werden durch **absoluten Alkohol.**

Der im Handel käufliche absolute Alkohol ist meist nur 98—99%ig. Wasserfrei kann derselbe gemacht werden durch Einlegen von pulverisiertem, geröstetem Kupfervitriol in denselben.

Letzterer ist im Handel käuflich und wird in kleine Leinwandsäckchen mit Faden eingebunden oder eingenäht; derartige Kupfervitriolsäckchen legt man in die Gefäße, in welchen absoluter Alkohol aufbewahrt wird. Diese Gefäße müssen stets gut verschlossen sein, da der absolute Alkohol auch Wasser aus der Luft aufnimmt.

101. In der Regel genügt die Konzentration des käuflichen sog. absoluten Alkohols. Das geröstete Kupfervitriol ist eigentlich nie ganz wasserfrei, namentlich nie, wenn es einige Zeit nach der Herstellung gebraucht wird, so daß die Wasserbefreiung auf diesem Wege meist illusorisch ist. Will man wirklich völlig wasserfreien, absoluten Alkohol haben, so greife man zu anderen komplizierteren Mitteln.

102. Will man Alkohol aus irgendeinem Grunde vermeiden, so gebrauche man kurze Zeit Azeton und dann Xylol usw.

103. Beim Übertragen des Objekts aus einer Flüssigkeit in eine andere entstehen Diffusionsströme, die namentlich bei zarteren, größere Hohlräume enthaltenden Objekten zu Zerreißungen und Schrumpfungen Veranlassung geben, welche das Objekt oft bis zur Unkenntlichkeit entstellen. Deshalb kann man bei dieser Prozedur nicht vorsichtig genug sein: man läßt das Objekt aus dem Alkohol langsam in die Zwischenflüssigkeit hineinsinken. Dieses geschieht, indem man in ein Probierröhrchen zuerst die spezifisch schwerere Zwischenflüssigkeit, z. B. Chloroform, und auf diese langsam absoluten Alkohol aufgießt. Man bringt dann die Stücke vorsichtig in das aufrecht stehende Gläschen und sieht, daß sie an der Stelle, an welcher sich die beiden Flüssigkeiten berühren, stehen bleiben; erst wenn sie von der Zwischenflüssigkeit durchtränkt sind, senken sie sich zu Boden; dann kann man den sich zu oberst befindlichen Alkohol entweder vorsichtig abgießen oder mit einer Glaspipette wegsaugen.

104. Es ist klar, daß die Objekte sich in die Zwischenflüssigkeit um so langsamer senken, je schwerer diese im Vergleich zum Alkohol ist; will man ein **langsames Versenken** erzielen, so gebrauche man Chloroform.

Will man zarte Objekte schonend aus absolutem Alkohol in Xylol überführen, so setze man nur allmählich Xylol zu Alkohol zu und gehe erst dann zu reinem Xylol über.

105. Man bringt die Objekte aus dem Xylol nicht direkt in reines Paraffin, sondern zunächst in eine **Mischung** von mehr Xylol und weniger Paraffin. Stellt man die Mischung in einen Thermostat von 37 ° C, so verdunstet allmählich das Xylol im Verlauf einiger Stunden, so daß fast reines Paraffin zurückbleibt. Ganz rein wird dasselbe jedoch nicht; es muß daher das Objekt zum Schluß noch in **reines Paraffin** auf einige Stunden übertragen werden. Die Präparate schrumpfen in der Regel bei diesem Verfahren bedeutend. Das am meisten Schädliche ist wohl dabei die hohe Temperatur, der die Präparate längere Zeit ausgesetzt werden.

106. Um die Schrumpfung auf das Minimum zu reduzieren, empfiehlt Benda (00), daß man den Präparatblöcken möglichst viel Paraffin auf kaltem Wege einverleibt, ehe

man sie, aber dann auf kürzere Zeit, in den Paraffinofen bringt (§ 112.)

107. Nachdem O. Schultze (07) darauf aufmerksam macht, daß seine **Osmium-Kaliumbichromatlösung** weniger wie die üblichen Fixierungsflüssigkeiten die Präparate zum Schrumpfen bringt, fährt er fort: »Aber auch diese sind bei der üblichen Paraffineinbettung, welche mit oft lange wirkenden Hitzegraden von 50—60° arbeitet, bekanntlich nachträglichen Schrumpfungen ausgesetzt. Meine Methode ist deshalb folgende: In die Schale, welche die in absolutem Alkohol liegenden und einzubettenden Stücke enthält, gieße ich vom Rande her langsam so viel **Zedernöl,** daß die am Boden sich ansammelnde Ölschicht hoch genug ist, um die zunächst mit dem Alkohol auf dem Öl schwimmenden, allmählich untersinkenden Stücke ganz aufzunehmen Nach einigen Stunden, je nach der Größe der Objekte, wird die Flüssigkeit abgezogen und durch reines Zedernöl ersetzt. Aus diesem kommen die Stücke in Paraffin von nur 36° Schmelzpunkt (von Grübler bezogen) und schließlich möglichst kurz (je nach der Größe, z. B. Retina nur für eine Minute) in Paraffin von 45—48°.« Um mit diesem Paraffin dünne Schnitte zu gewinnen, muß die Temperatur der Umgebung niedrig (10—12°) sein, was im Sommer durch Abkühlung der Blöcke in Eis-Salzmischung erzielt wird, wenn nicht spezielle Kühlräume für diese Zwecke vorhanden sind.

108. Paraffinsorten. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden will, ist man gezwungen, Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten zu benutzen, bei niederer Temperatur zu 50° C, bei höherer zu 60° C.

Man tut gut, mit verschiedenen Paraffinsorten von verschiedenen Schmelzpunkten zu arbeiten und diese zu mischen. Man nimmt als weichste Sorte ein Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt, als härteste ein solches von 55—60° Schmelzpunkt. Je nachdem man von dem einen mehr oder weniger als von dem anderen nimmt, erhält man durch Probieren ein Paraffin, das bei der gewünschten Temperatur flüssig wird.

109. Graf Spee (85) empfiehlt **überwärmtes Paraffin,** namentlich für **Bänderschneiden** (s. § 159), zu verwenden. Darstellung: Paraffin von 50° C Schmelzpunkt wird in einer offenen Porzellanschale über einer Flamme geschmolzen und dann weiter erhitzt, bis es unter Entwickelung unangenehm riechender weißer Dämpfe, geringer Reduktion seines Volumens und Erhöhung seines Schmelzpunktes um einige Grade eine braungelbe, dem gelben Wachs oder Honig ähnliche Farbe angenommen hat. (Dieses Paraffin erhält man auch durch Dr. Grübler in Leipzig.)

110. Die **Zeitdauer,** welche das zu **durchtränkende** Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Größe des Stückes. Am längsten muß es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück wasserfrei zu machen, und in der Mischung Xylol-Paraffin, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Xylols und so ein allmähliches Überführen in reines Paraffin herbeizuführen.

Die Zeit, welche sich für Stücke verschiedener Größe als Optimum empfiehlt, ist in Stunden:

	Kleine Objekte unter 1 mm Seite	Mittlere Objekte bis 5 mm Seite	Große Objekte über 5 mm Seite	Sehr große Objekte
Absol. Alkohol	2	6	24	längere Zeit, aber auf Kosten der Güte.
Xylol	½	2—3	3—4	
von jetzt an weiter im Thermostat				
Xylol-Paraffin .	1	4	6	
Paraffin . . .	½	2	3—4	

In Xylol werden die Stücke ganz durchsichtig und dürfen keinen dunkleren Kern aufweisen.

111. Es ist nicht Bedingung, daß der Prozeß des Durchtränkens zeitlich ununterbrochen verlaufe, man kann z. B. in reines Paraffin oder Paraffin-Xylol gelegte Stücke abends aus dem Thermostaten herausnehmen, um sie morgens wieder hineinzustellen. Dies verdient jedenfalls den Vorzug gegenüber dem Verfahren, daß die Stücke über Nacht im Thermostat verbleiben und so vielleicht Schaden nehmen könnten.

112. Will man den Vorgang sehr allmählich und gleichmäßig machen, so kann man, anstatt das Objekt aus Xylol in die Mischung überzuführen, dem Xylol Stücke ungeschmolzenen Paraffins zusetzen. Dieses wird schmelzend sich allmählich dem Xylol beimischen, während das Xylol verdunstet.

113. Als **Thermostat** dienen doppelwandige Kästen, welche eine Türe besitzen. Der Raum zwischen den doppelten Wänden wird mit Wasser oder Glyzerin gefüllt. Heizung am besten mit Gas. Zahlreiche Firmen liefern solche Wärmekästen. Ein Regulator vermindert oder vermehrt den Gaszufluß, wenn die Temperatur, deren Höhe ein ins Innere des Kastens reichender Thermometer anzeigt, von der gewünschten abweicht.

Ein hübscher Apparat, der unter dem Namen **„Neapler Wasserbad“** zu beziehen ist, ist vielleicht deshalb nicht populär geworden, weil er zu klein ist.

114. Der **Thermo-Regulator** besteht in einfachster Form aus 2 Glasröhren, welche ineinander geschoben sind, ohne sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen; durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre reicht nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber, gefüllt. In dieses taucht man, wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschließen, so daß weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschluß der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche stets ein sehr geringes Ausströmen des Gases gestattet. Moderne Regulatoren sind zwar nach diesem Prinzip, aber abweichend in der Ausführung gebaut.

115. Ist so das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so wird es in eine Form gegossen, **„eingebettet“**.

Die Form muß mit Glyzerin in dünner Schicht ausgestrichen sein, wenn die Wände der Form nicht absolut glatt und rein sind, damit sich der erstarrte Paraffinblock wieder leicht herausnehmen läßt.

Als Form dienen für mittelgroße Objekte zwei auf eine Glasplatte aufgestellte **Winkel.** Dies sind unter rechtem Winkel gebogene Metallplatten, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine größere oder kleinere Form geben.

Vielfach werden als Form Papierkästchen oder Stanniolkästchen benutzt, wie sie sich jedes leicht selbst anfertigt.

Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form; auch können glattrandige Deckel der käuflichen Glasdosen in verschiedenen Größen benutzt werden (s. weiter unten).

116. Das Verfahren ist folgendes. Nachdem die Form mit der den Boden bildenden Glasplatte mit Glyzerin ausgestrichen und auf eine etwas über den Schmelzpunkt des Paraffins angewärmte Platte gestellt ist, werden ein Spatel (eine Platte mit Stiel, erstere gewöhnlich aus vernickeltem Blech, die besten fertigt man aus Platin) und eine

Präpariernadel über der Flamme leicht erwärmt, Paraffin wird in die Form gegossen und das Objekt mit dem erwärmten Spatel übertragen. Das Objekt wird dann **orientiert,** d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht, in der es nachher geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig geworden ist, eine solche (beim Einspannen in das Mikrotom, s. unten) erschwert, bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis das Paraffin ein Häutchen bekommt, was man durch Anblasen desselben befördern kann. Dann wird die ganze Form in kaltes Wasser gebracht, wenn keine Vorrichtungen zur direkten Abkühlung der vorher erwärmten Platte vorhanden sind, um ein möglichst rasches Erstarren von allen Seiten herbeizuführen. Letzteres ist notwendig, da das langsam erstarrende Paraffin nicht so homogen wird und sich nicht so gut schneidet wie das rasch erstarrte. Nach längerem Liegen in kaltem Wasser sind die Stücke erstarrt und können aus der Form genommen werden.

117. Um die in durchsichtigem flüssigem Paraffin orientierten Objekte auch nach der Erstarrung des Paraffins auf dem Paraffinblocke zu markieren, bringt man sie in Lagebeziehung zu geraden Rinnen, welche man sowohl auf der Glasplatte, als auch auf der Innenseite der Einbettungsrahmen, die beim Ausgießen des Paraffins benutzt werden, anbringt. Diese Rinnen hinterlassen deutliche Spuren auf dem erstarrten Paraffinblock.

118. Für **kleine Objekte,** welche nicht orientiert zu werden brauchen, geben Caullery und Charppellier an: Eine Glasröhre von 10 cm Länge und 5 mm Durchmesser wird an einem Ende mit feiner Leinwand verschlossen, und auf diese werden die zu fixierenden kleinen Objekte gebracht. Die Fixierung usw. geht in der Weise vor sich, daß man die Röhre samt Inhalt mit dem verschlossenen Ende voran in den betreffenden Flüssigkeiten die erforderliche Zeit liegen läßt; zum Schluß taucht man die Röhre in Paraffin, zieht sie heraus, verschließt die obere Öffnung der Röhre eine Zeitlang mit dem Finger, taucht die Röhre in kaltes Wasser usw. Man entfernt dann die Leinwand und bringt durch leichtes Erhitzen den Block heraus. Die Objekte befinden sich im Paraffin unmittelbar unter der Oberfläche desselben.

119. Die **Zelloidindurchtränkung** wird folgendermaßen ausgeführt: Das in Tafeln käufliche Zelloidin ist wasserhaltig und liefert deshalb nur schlecht schneidbare Massen; man schneide dieses Zelloidin in kleine Stücke und trockne es an der Luft oder im Thermostaten, wobei es hart, gelblich und durchsichtig wird. Die getrockneten Zelloidinstückchen werden mit nur so viel Alkohol-Schwefeläther (gleiche Volumteile) übergossen, daß sich nach einigen Tagen und mehrmaligem Umrühren nicht die ganze Zelloidinmenge auf einmal löse, sondern ein Teil derselben gequollen, aber ungelöst auf dem Boden des Gefäßes zurückbleibt. Der gelöste Teil, eben noch flüssig, ist die **Urlösung.** Man stelle aus dieser Urlösung 3 Lösungen her: 1. eine gesättigte, in abs. Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen, 2. eine Lösung aus gleichen Teilen der Lösung 1 und Alkoholäther und 3. eine Lösung, die aus einem Teil der Lösung 2 und einem gleichen Volumen Alkoholäther besteht. Man achte darauf, daß sowohl Alkohol als Schwefeläther absolut wasserfrei sind. — Die zu durchtränkenden Objekte kommen aus dem abs. Alkohol in Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen, worin sie etwa 24 Stunden verbleiben, dann kommen sie auf 24 Stunden oder länger in die Lösung 3, aus dieser auf ebenso lange Zeit in die Lösung 2 und schließlich auf 48 Stunden in die Urlösung 1. In dieser Lösung werden die Stücke eingebettet, und zwar so, daß man das Zelloidin samt dem Stücke in ein trockenes, passendes Gefäß mit flachem, ebenem Boden (z. B. Glasdosendeckel) gießt, luftdicht schließt (mit Vaseline eingeriebene Glasplatte), damit die Luftblasen entweichen; nach einigen Stunden wird der Deckel entfernt und das Glasgefäß samt dem Präparat unter eine kleine Glasglocke gebracht. Nun bildet sich auf dem Zelloidin eine Kruste; nach 6—12 Stunden kann das Ganze vorsichtig in 70%igen Spiritus gebracht werden; nach 24 Stunden kann das Zelloidin vom Glase abgelöst und entweder weiter zum Schneiden behandelt oder beliebig lange in 70—80%igem Spiritus aufbewahrt werden, noch besser aber in Glyzerin, worin die zugeschnittenen Zelloidinstücke ganz durchsichtig werden. — (Die Zelloidindurchtränkung haben wir nach von Apáthy (89) geschildert.)

120. Will man die so eingebetteten Stücke in Schnitte zerlegen, so schneide man zuerst das Zelloidin mit den Objekten so zu, daß die zu schneidende Fläche etwa ein

Quadrat darstellt, und befestige den Zelloidinblock auf einem Holzklotz. — Der Holzklotz wird in abs. Alkohol, oder besser, in Alkohol-Äther gelegt und ebenso die zu befestigende Fläche des Zelloidinblockes ein paar Minuten in abs. Alkohol eingetaucht, um die oberflächliche Zelloidinschicht aufzuweichen; nun wird der Block mit einer eben zugeschnittenen Fläche auf den Träger mit Zelloidin 2 (siehe § 119) aufgelegt, vorsichtig angedrückt, damit die Zelloidinschicht dünn wird, das hervorquellende Zelloidin entfernt und nach einigen Minuten das Ganze in 70%igen Spiritus getaucht; nach ein paar Stunden kann geschnitten werden.

121. Eine zweite grobe Art in Zelloidin einzubetten (nur für Übersichtsbilder und Schnelldiagnosen zu gebrauchen), besteht darin, daß das betreffende Stück aus dem Zelloidin genommen und direkt auf einen Kork- oder Holzklotz gelegt wird. Ist das Zelloidin nach einer Stunde in der Luft etwas härter geworden, so überträgt man Klotz mit Präparat in 80%igen Alkohol, in welchem die Befestigung nach wenigen Stunden erfolgt. In Zelloidin eingebettete Präparate müssen feucht unter Spiritus geschnitten werden.

122. Eine **Zelloidintrockenmethode** stammt von Lee her und ist auch von Wolfrum näher beschrieben worden. Die Objekte kommen aus dem abs. Alkohol in eine dünne Zelloidinlösung, die man allmählich durch Verdunstung eindicken läßt. Hat das Zelloidin eine solche Konsistenz angenommen, daß es bei Neigung der Schale nicht mehr fließt, so gibt man diese Schale in einen zweiten luftdichten Behälter mit Chloroform auf dem Boden. Die Chloroformdämpfe härten das Zelloidin ohne Schrumpfung (2 cm dicke Schicht ist in 12 Stunden durchgehärtet!). Die Blöcke, welche man aus der Masse ausschneidet, kommen in ein Gemisch aus Zedernholzöl und Chloroform zu gleichen Teilen; man bedecke das Gefäß und stelle es in einen Paraffinofen bei 30—40°. Das Chloroform verdunstet in 1—2 Tagen fast ganz, doch übertrage man lieber das Objekt auf 12 Stunden in reines Zedernholzöl, um die letzten Spuren des Chloroforms zu verdrängen. Der Block bleibt dann einen halben Tag in der Luft liegen, man klebt ihn dann auf wie gewöhnlich, aber mit dickem Zelloidin und ohne zu pressen; die Bindeschicht wird in der Luft hart und die Blöcke halten fest. Man schneidet trocken bei

senkrechter oder leicht schräger Messerstellung, sammelt die Schnitte in 85 % Alkohol, welcher einigemal zu wechseln ist, um das Öl zu entfernen usw. Man kann die Blöcke im Mikrotom einen Tag ohne Schaden eingespannt lassen. In einem verschließbaren Gefäß mit etwas Zedernholzöl auf dem Boden kann man solche Blöcke beliebig lang aufheben. Die Blöcke sind durchsichtig wie Glas, und läßt sich deshalb diese Methode für makroskopische oder Lupendemonstrationen in Zedernöl verwerten.

123. An Stelle von Zelloidin kann man sich auch für manche Zwecke **Photoxylins**, Krysinski (87), bedienen, welches sich vielleicht etwas weniger gut schneidet, aber durchsichtiger bleiben soll und so die Orientierung beim Schneiden erleichtert.

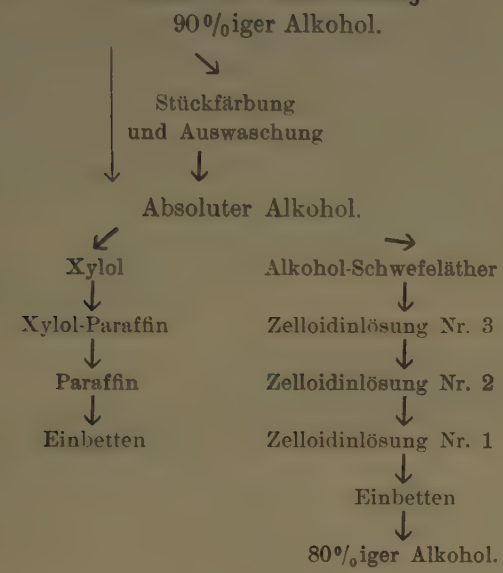
124. Für die Beurteilung der später einzuschlagenden Operationen (s. § 169) behalte man im Auge, daß Zelloidin in starkem Alkohol und namentlich in absolutem leicht löslich ist. Sehr viele ätherische Öle, in erster Linie das Nelkenöl, lösen Zelloidin, dagegen nicht Bergamottöl, Origanumöl, Zedernholzöl. Neelsen und Schiefferdecker (82).

125. Um die Vorteile, welche Zelloidin- und Paraffindurchtränkung bieten, zu vereinigen und womöglich die Fehler beider zu vermeiden, hat man versucht, ein Objekt zunächst mit Zelloidin und das so gewonnene Stück nachträglich noch mit Paraffin zu durchtränken. Zelloidin-Paraffindurchtränkung. Zu empfehlen für sehr zarte Objekte, für welche bei Paraffindurchtränkung allein in Xylol und Thermostat ein Schrumpfen befürchtet wird.

126. Die einfachste und die beste Methode für **Zelloidinparaffin-Durchtränkung** ist die von v. Apáthy (96): statt die mit Zelloidin durchtränkten Stücke zum Härten in 70 %igen Spiritus zu bringen, bringt man sie in Chloroform und durchtränkt mit Chloroform-Paraffin, Paraffin etc.

127. Bei sehr **brüchigen Objekten** behilft man sich, indem man die Schnittflächen mit einer dünnen Zelloidinlösung (1 %ig) oder heißem Paraffin überstreicht (C. Rabl), diese erstarren läßt und dann einen neuen Schnitt anfertigt. Zu der Zelloidinlösung ist es zweckmäßig, Rizinus- oder Zedernholzöl zuzusetzen, 5 Tropfen auf 100 ccm, Jordan. Heider nimmt Mastix gelöst in Äther. Dieses Verfahren ist sowohl bei der kombinierten Zelloidin-Paraffin-Methode, als auch bei Paraffin allein anwendbar.

128. Schema für Durchtränkung.



4. Kapitel. Mikrotom.

129. Um das Schneiden von der geringeren oder größeren Geschicklichkeit des einzelnen unabhängig zu machen, wurde eine Reihe von Apparaten konstruiert, welche den Namen **Mikrotom** führen. Diese Apparate, sehr verschieden gebaut, haben das gemeinschaftlich, daß das Präparat bei gleichstehendem Messer nach jedem Schnitt um so viel gehoben wird, als die Dicke des nächsten Schnittes betragen soll. Dies wird erreicht, z. B. bei dem Jungschen Mikrotom, durch eine schiefe Ebene, auf welcher das Präparat bewegt wird, während das Messer in derselben Ebene bleibt, bei anderen z. B. dadurch, daß das Präparat direkt durch eine Mikrometerschraube, auf der es befestigt ist, gehoben wird, Ranviersches Mikrotom z. B. Bedingung für das Schneiden ist nun, daß stets nur so viel durch das Messer weggenommen wird, als das Objekt eben gehoben wurde. Dies geschieht bei manchen Mikrotomen dadurch, daß das durch die Hand geführte Rasiermesser einer festen Unterlage aufliegt, welche verhindert, mehr wegzunehmen, als was eben über diese

Unterlage hervorragt. Bei anderen Mikrotomen ist das Messer an einem Blocke befestigt, welch letzterer auf Schienen bewegt werden kann. Das Messer beschreibt so bei jeder Bewegung wieder denselben Weg und nimmt jedesmal das, um was das Objekt gehoben wurde, weg. Die letzteren sind die sog. **Schlittenmikrotome.**

Wieder bei anderen Mikrotomen steht das Messer fest, und das Objekt wird durch einen Hebel an demselben vorbeibewegt.

Beschreibung eines Mikrotoms.

130. Es wird hier nur ein relativ einfach gebautes und doch vorzügliches Schlittenmikrotom von Jung in Heidelberg geschrieben, um das Verständnis des Baues anderer Mikrotome, welche im Grunde genommen nach demselben Prinzip gebaut sind, zu erleichtern.

131. Bestandteile des Jungschen von Prof. Thoma verbesserten Rivet-Brandtschen **Mikrotoms.**

Das Stativ desselben ist aus vier Metallplatten zusammengesetzt. Die erste liegt als Fuß auf dem Tisch; senkrecht zu derselben ist auf derselben eine zweite befestigt. An den beiden Seiten der senkrechten verläuft je eine Platte unter einem nach oben offenen spitzen Winkel. In diesen beiden Winkeln kann jederseits ein schwerer metallener Keil eingesetzt werden. Diese füllen den Winkel genau aus und können auf an den Platten befindlichen Schienen verschoben werden. Die Keile laufen, um die Reibung zu vermindern, auf Metallknöpfen oder Elfenbeinfüßchen. Diese Keile werden Schlitten genannt. Rechts befindet sich der das Messer tragende Schlitten, der **Messerschlitten,** links der das Objekt tragende **Objektschlitten.**

132. Das Messer wird am **Messerschlitten** in zum Tisch wagerechter Richtung durch eine Schraube befestigt.

Die Messerschlitten tragen meist mehrere Bohrungen zur beliebigen Befestigung des Messers.

133. Zu empfehlen sind **Messerhalter** von S. v. Apáthy (97), welche in die Schraube eingespannt werden können. Das Messer kann im Messerhalter in verschiedenen Winkeln zum Objekt durch Klemmschrauben befestigt, und die ganze Länge der Schneide ausgenutzt werden: es ist möglich, wenn eine Stelle des Messers nicht mehr gut schneidet, dasselbe zu verschieben.

134. Der Objektschlitten trägt den **Objekthalter.** Der Objekthalter ist eine Klammer, welche an einem Stift durch die Halteschraube höher oder tiefer gestellt werden kann. In dieser Klammer wird das Objekt, resp. der Kork oder Holzklotz, auf welchen dasselbe befestigt ist, durch eine Schraube »eingespannt«.

135. An Stelle der eine Klammer tragenden Objektschlitten wurden solche konstruiert, welche eine Drehung des Objekts nach allen Seiten und Feststellung desselben in einer beliebigen Lage gestatten: **Orientierungsapparate.** Ein solcher ist für feinere, speziell embryologische Untersuchungen unentbehrlich,

Der Orientierungsapparat des Jungschen Mikrotoms besteht aus zwei ineinander befindlichen Rahmen, welche um zwei aufeinander senkrecht stehende Achsen durch Schrauben bewegt, durch Triebbewegung (nach L. Koch) vertikal verstellt und in jeder beliebigen Stellung festgestellt werden können.

Im inneren Rahmen kann ein Zylinder festgestellt werden, auf welchen das Objekt aufgeschmolzen wird. Der Zylinder, mit ihm das Objekt, kann gehoben oder gesenkt werden, auch ist er um seine Längsachse drehbar.

136. Wird nun der Messerschlitten bei ruhigstehendem Objektschlitten durch die Bahn geführt, so wird er ein über Messerhöhe hervorragendes Stück des Objekts abschneiden. Nun wird der Messerschlitten zurückgeschoben. Die Bahn des Messerschlittens ist überall in gleicher Höhe vom Tisch entfernt. Die Bahn des Objektschlittens steigt dagegen allmählich an: wird daher der Objektschlitten etwas vorwärts geschoben, so steht das Objekt etwas höher, es wird demnach, wenn der Messerschlitten wieder durch die Bahn bewegt wird, ein Schnitt abgeschnitten usf.

Einfache Überlegung zeigt sofort, daß der vielleicht auftauchende Gedanke, es könnte sich hier nicht um plattenförmige (planparallele) Schnitte, sondern um keilförmige handeln, unrichtig ist.

137. Die Bewegung des Objektschlittens erfolgt durch eine **Mikrometerschraube,** welche ein eigener Schlitten, der **Mikrometerschraubenschlitten,** führt. Dieser Schlitten befindet sich in der Objektschlittenbahn und wird dem Objektschlitten näher geschoben, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt. Die Spitze der Mikrometerschraube ruht dann auf einer eigenen Platte

des Objektschlittens. Dann wird der die Mikrometerschraube tragende Schlitten mittels einer Halteschraube befestigt.

Wird nun die Mikrometerschraube um ein Bestimmtes gedreht — wie weit, kann an einer an derselben befindlichen Trommel abgelesen werden —, so wird der Objektschlitten um ein Bestimmtes vorgeschoben, das Objekt um ein Bestimmtes gehoben, und aus der Größe der Drehung der Mikrometerschraube ergibt sich nach ihrem, für jedes Mikrotom bestimmten Umdrehungswert die Schnittdicke. Diese beträgt für das Jungsche Mikrotom für eine Umdrehung der Mikrometerschraube 15 μ.

138. Eine Skala mit Nonius, an der abgelesen werden kann, wie weit der Objektschlitten vorgeschoben wurde, und nach der unter Berücksichtigung der Steigung der Bahn die Schnittdicke berechnet werden kann, bleibt an den neueren Jungschen Mikrotomen weg.

139. Für die Mikrotome wurden besondere Messer in Keilform konstruiert.

Die **Mikrotommesser** sind in der Regel plan-konkav; die zum Präparat gekehrte Seite, die untere, ist plan. Das Messer wird nur an der Schneide von beiden Seiten geschliffen, wodurch zwei neue Flächen entstehen, Schneidefacetten, welche verschiedene Winkel miteinander bilden können. Es ist klar, daß beim Schneiden nur die Lage der erwähnten Facetten zueinander und zur Schnittfläche und nicht die der eigentlichen Flächen des Messers in Betracht kommen. Siehe v. Apáthy (97).

Die Messer sind nicht wie die Mikrotome durch Ölen vor dem Rosten zu schützen, vielmehr bediene man sich dazu des Paraffins. Mit einem Stück vorher filtrierten reinen Paraffins reibt man die ganze Fläche des Messers ein.

Um das Rosten zu verhüten, halte man die Messer in Etuis und bewahre sie wie die Mikrotome vor Berührung mit Säuren und Feuchtigkeit.

Nebenapparate des Jungschen Mikrotoms:

141. Gefrierapparat. Derselbe wird am Jungschen Mikrotom am Objektschlitten befestigt, in ähnlicher Weise wie der Objekthalter und an Stelle desselben. Er besteht aus einer Platte von Metall, auf welche das Objekt, nicht über 5 mm dick, gelegt wird; gegen ihre Unterseite wird durch ein Gebläse Äther zerstäubt. Hierdurch wird die Platte stark abgekühlt, und das Objekt friert an. Ist das-

selbe fest gefroren, so wird in der gewöhnlichen Weise, aber trocken, ohne das Messer irgendwie zu benetzen, geschnitten.

Nach Benutzung des Gefrierapparates ist eine besonders genaue Reinigung und Ölung des Mikrotoms erforderlich, um das Rosten desselben zu verhüten.

Es werden auch verschiedene spezielle Gefriermikrotome angefertigt, sowohl für Äther, als auch für flüssige Kohlensäure. Näheres darüber Solger »Gefriermethoden« und Thomé »Mikrotome« in der Encyklopädie der mikroskopischen Technik.

142. Weltberühmt sind die an flüssige Kohlensäure adaptierten Gefriermikrotome von F. Sartorius in Göttingen. Man schneide aber nie damit, ohne die beigegebene Gebrauchsanweisung sich eingeprägt zu haben.

143. Um den Druck der Hand bei Führung des Messerschlittens auszuschalten, wird an Jungschen Mikrotomen ein tischwärts ragender Zapfen angebracht.

144. Für spezielle Zwecke, z. B. Schnitte durch das ganze Gehirn, sind eigene Mikrotome konstruiert worden. Beim Schneiden mit dem Mikrotom muß man folgendes berücksichtigen:

145. Ölen. Die Schienen der Schlittenbahnen des Mikrotoms werden vor dem Gebrauch gesäubert und mittels eines Pinsels mit einer Ölschicht überzogen Es empfiehlt sich hierfür: 4 Teile Knochenöl auf 1 Teil Petroleum.

Die Prozedur der Säuberung und des Ölens erfordert eine besondere Sorgfalt, da sie die Vorbedingung des ruhigen Ganges des Schlittens ist. Geht der Schlitten schwer, was bald der Fall ist, besonders wenn man das Mikrotom nicht vor Staub schützt, indem man es z. B. nicht mit einem Glassturz bedeckt, so darf nicht sofort neues Öl aufgetragen werden, sondern es müssen sorgfältig die Schienen der Schlittenbahnen mit einem Tuche gereinigt werden, dann erst ist frisches Öl aufzutragen.

Die Ölschicht muß eine dicke sein, so daß der Messerschlitten, dessen Bahn beim Ölen besonders zu berücksichtigen ist, leicht mit dem Finger angestoßen, von selbst durch die Bahn läuft.

Laufen die Schlitten auf Glasschienen, so wird nicht geölt.

146. Einspannen des Objekts. Das in Paraffin eingebettete Objekt wird mit einem Messer als Würfel aus-

geschnitten, dann schneidet man von 5 Seiten des Stücks möglichst viel überflüssiges Paraffin weg. Mit der sechsten Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objektschlittens passendes Stück harten Paraffins, Kork, Holz oder Stabilit aufgeschmolzen. Letzteres geschieht in der Weise, daß man mittels eines an der Flamme erhitzten dicken Drahtes das Paraffin schmilzt und dann das Stück rasch auflegt. Etwaige Unregelmäßigkeiten werden noch mit dem heißen Draht geebnet und das Stück für etwa zehn Minuten in kaltes Wasser gebracht.

147. Fixierte Stücke können auch undurchtränkt, jedoch feucht geschnitten werden, vorausgesetzt, daß sie hierfür hart genug sind. Dieselben werden auf einem Kork oder Holzstück mittels Gummileim befestigt (Weigert). Stück und Block werden einige Zeit mit der Hand zusammengehalten und kommen dann, um den Gummi zum Erstarren zu bringen, in Alkohol.

Nun wird das Ganze in den Objekthalter fest eingeschraubt, eingespannt.

148. Am Messerschlitten wird das **Messer** so **befestigt,** daß seine Längsachse einen nach der Konsistenz des Objekts und Härte des Paraffins, resp. Temperatur, zu wählenden Winkel zu der Längsachse des Mikrotoms bildet, s. unten.

149. Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so daß Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind.

150. Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, daß die nach oben gerichtete Seite desselben möglichst genau die Höhe des Messers hat. Das Messer wird versuchsweise über das Objekt weggeführt, event. der Objektschlitten noch wenig verschoben, bis das Messer faßt.

151. Grundregel ist: Niemals dürfen dicke Scheiben mit dem Mikrotommesser abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Stückes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten jedesmal höchstens um Bruchteile eines Millimeters verschiebt und abschneidet, so lange, bis man das Gewünschte entfernt hat.

152. Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit einem Messer von den Rändern des Paraffinblocks

Paraffin abgeschnitten, so daß die Schnittfläche des Objekts eine möglichst kleine ist. Es empfiehlt sich hierbei, wenn man mit schief gestelltem Messer schneidet, den Block so zuzuschneiden und zu befestigen, daß die Schnittfläche gegen das Messer eine Spitze bildet; es greift dann das Messer leichter an, doch ist dies unwesentlich. Dann wird der Schlitten mit der Mikrometerschraube dem Objektschlitten so genähert, daß die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt, und der Schlitten wird mit der Halteschraube befestigt. Das Schneiden kann beginnen.

153. Beim Schneiden führt die rechte Hand den Messerschlitten, indem sie denselben mit zwei Fingern an der dem Schneidenden zugekehrten und der entgegengesetzten Seite anfaßt. Niemals darf von oben aufgedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt unregelmäßig werden. Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens zu verhindern, sich aufzurollen. Bessere Mikrotome haben, wie erwähnt, am Messerschlitten eine seitlich angebrachte, nach unten gerichtete Stange, welche man vorsichtig faßt, um das Messer zu führen; durch diese Vorrichtung ist die Möglichkeit eines Druckes auf den Mikrotomschlitten aufgehoben.

154. Es sind auch **Schnittstrecker** (Born, 93) konstruiert worden; dieselben sind jedoch in der Mehrzahl der Fälle entbehrlich.

155. Zunächst wird die Mikrometerschraube gedreht, und zwar für den Anfang in der Regel zur Erzielung einer Schnittdicke von 15 μ, bei Jung eine Umdrehung, später 10 μ und weniger, d. h. es wird die Schraube nur zu zwei Drittel und weniger gedreht, was an der Trommel abgelesen werden kann.

Dann wird der Messerschlitten langsam durch die Bahn geführt, indem, sowie das Messer faßt, mit dem Pinsel der Schnitt gehalten wird, ehe er sich zu rollen beginnt.

Die Pinselführung macht im Anfang viel Schwierigkeit. Einmal sollen die Pinselhaare nicht mitgeschnitten werden, dann muß der Schnitt während des Schneidens frei in der Luft gehalten werden, ohne daß er mit dem Pinsel aufs Messer aufgedrückt wird. Doch wird die erforderliche Übung bald erreicht.

156. Die untere (dem Objekt zugekehrte) Facette (vergl. § 139) des Messers muß mindestens der Objektfläche parallel sein, wenn sie beim Schneiden keinen Druck ausüben soll. Gewöhnlich ist eine geringe Neigung des Messers, so daß zwischen der unteren Facette und der Schnittfläche ein kleiner Winkel entsteht, von Vorteil. Dieser Winkel darf nicht 16° übersteigen. Die schiefgestellten Messer schneiden auf einem gewöhnlichen Mikrotom nicht mit Zug, wie etwa aus freier Hand geschnitten wird, sondern wie bei quergestellten Messern durch Druck. Mit Zug kann man nur mit speziellen Mikrotomen, deren Objektschlitten- und Objektmesserbahnen miteinander einen Winkel bilden, schneiden. Je schiefer die Messerstellung, desto weniger Widerstand bietet das Messer, weil der in Betracht kommende Facettenwinkel nicht in ganzer Größe zur Wirkung kommt. Weiche Objekte schneide man mit schiefer Stellung des Messers (Zelloidin z. B.). Die Form der Schnitte ändert sich stets am meisten bei weichem Paraffin, weniger bei hartem Paraffin und Zelloidin. v. Apáthy (97).

157. Ist so der Schnitt gelungen, so wird derselbe mit einem oder zwei Pinseln oder auch vermittelst einer Nadel oder eines spitz ausgezogenen Glasstäbchens weggenommen, um weiter behandelt zu werden. Dann wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn. Der Messerschlitten muß stets deshalb durch die ganze Bahn geführt werden, damit eine gleichmäßige Abnützung erzielt wird.

158. Hat man eine Zeitlang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben, sie muß dann zurückgedreht werden. Dabei ist zu beobachten, daß die zurückgedrehte Mikrometerschraube den Messerschlitten nicht mehr berührt. Es muß demnach die Halteschraube des Mikrometerschraubenschlittens gelöst, derselbe in der früher angegebenen Weise vorsichtig an den Objektschlitten angeschoben und dann wieder festgeschraubt werden. Der Objektschlitten darf während der ganzen Operation nicht bewegt werden. Ist dies aus Unvorsichtigkeit doch geschehen, so muß das Objekt vorsichtig wieder in Schnitthöhe gebracht werden, wie es angegeben wurde.

159. Es empfiehlt sich oft, das Messer quer zur Längsachse der Bahnen zu stellen. Dadurch wird das sog. Bänderschneiden ermöglicht, was für eine bestimmte Paraffinsorte bei einer gewissen Temperatur stets möglich

ist. Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt an der Schneide kleben, und beim Schneiden wird er Rand an Rand mit dem nun folgenden Schnitt innig verbunden. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten aneinander kleben lassen. Bänderschneiden ist, wie gesagt, nur möglich bei nicht zu dicken Schnitten, bei einer bestimmten Paraffinsorte und bei geeigneter Temperatur. Das Bänderschneiden gestattet ein rasches Arbeiten. Nötig ist es, die Oberfläche des das Objekt einschließenden Paraffinblocks so zuzuschneiden (am besten rechteckig), daß die der Messerschneide und die dem Schneidenden zugekehrte Seite beide der Messerschneide parallel sind.

160. Um bei hoher Zimmertemperatur das Schneiden von Paraffin auch von verhältnismäßig niedrigem Schmelzpunkt zu ermöglichen, kann man sog. **Kühlmesser** benützen (Stoß 91). Solche Messer (welche Katsch in München liefert) sind nahe dem Rücken der Länge nach durchbohrt; durch die so gebildete Röhre im Messer wird ein Eiswasserstrom durchgeleitet. Wenn das Paraffin infolge zu hoher Zimmertemperatur zu weich wird, kann man sich auch dadurch helfen, daß man das eingespannte Paraffinstück mit einem mit Äther getränkten Stückchen Zeug umwickelt.

161. Mit Zelloidin durchtränkte Schnitte werden **naß geschnitten,** d. h. es müssen vor jedem Schnitt das Stück und das Messer mittels eines Pinsels mit 70—80%igem Spiritus befeuchtet werden. Man schneidet mit schräg gestelltem Messer und mit raschen Zügen.

Nach dem Feuchtschneiden bedarf das Mikrotom einer besonderen Reinigung, um das Rosten zu verhüten.

162. Mit dem Gefriermikrotom wird **trocken** geschnitten, die Schnitte werden mit einem Pinsel vom Messer abgenommen und in destilliertes Wasser, physiologische Kochsalzlösung, Formol oder schwachen Alkohol überführt.

5. Kapitel. **Weiterbehandlung des Schnittes.**

163. Die Weiterbehandlung des Schnittes richtet sich nach dem Medium, mit welchem derselbe durchtränkt war. Paraffinschnitte müssen zunächst von dem darin befindlichen **Paraffin befreit** werden. An aufgehellten Schnitten von Objekten, welche auf keine Weise gefärbt sind, sieht man nur wenig. Ungefärbte Schnitte müssen daher gefärbt werden, Schnittfärbung, wenn nicht Stückfärbung vorausgegangen ist. Dann können dieselben zur Aufbewahrung **eingeschlossen werden.**

164. Es hat sich als praktisch herausgestellt, große, leicht zerfallende einzelne Schnitte, ebenso zarte, sehr kleine Objekte oder Serien von Schnitten, welche geordnet bleiben sollen, vor diesen Manipulationen auf den Objektträger zu befestigen. — Aufkleben. Dies bietet u. a. den Vorteil, daß man eine große Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmäßiger behandeln kann. Unerläßlich ist das Aufkleben, wenn es sich um Anfertigung sog. Schnittserien, z. B. für embryologische Untersuchungen oder für Rekonstruktionen (siehe diese), handelt. Man hat beim **Serienschneiden** darauf zu achten, daß kein Schnitt verloren geht; ist dies doch geschehen, so ist dies sofort zu notieren (etwa so, daß man in den Serienkatalog einschreibt: Serie 1, Objektträger 2, Schnitt 3 fehlt), oder eine entsprechende Lücke, wo das verlorene Stück liegen sollte, auf dem Objektträger läßt. Die Weiterbehandlung von Paraffinschnitten, welche aufgeklebt werden sollen, ordnet sich folgendermaßen: Aufkleben, Paraffinbefreiung, Schnittfärbung, Einschluß.

165. Es soll zunächst die Weiterbehandlung nichtaufgeklebter Paraffinschnitte und Zelloidinschnitte geschildert werden. Die Weiterbehandlung nichtaufgeklebter Schnitte ist namentlich für Mediziner gut einzuüben, da dieselbe in der pathologisch-anatomischen Technik bei Schnelldiagnosen eine große Rolle spielt.

166. Paraffinschnitte werden vom Mikrotom mit Pinsel resp. mit einer Nadel direkt in ein flaches Schälchen, enthaltend eine der im § 99 angegebenen Flüssigkeiten, gebracht, in denen sich Paraffin löst, z. B. Xylol. Im Xylol müssen die Schnitte mindestens so lange verweilen, bis sich Paraffin löst, was man mit bloßem Auge beurteilen kann: der Schnitt wird sehr durchsichtig. Ist das Schneiden beendigt, so können die Schnitte zusammen weiter behandelt werden. Aus dem Xylol können die Schnitte direkt eingeschlossen werden, vorausgesetzt, daß die Einschlußmasse dies gestattet, also z. B. nicht wasserhaltig ist. Man verfahre dann nach § 206. Beim Übertragen des Schnittes benutze man Spatel und Nadel und sorge, daß der Schnitt sowohl auf dem Spatel wie auf dem Objektträger glatt liegt. Sollen die Schnitte vor dem Einschließen gefärbt werden, so übertrage man sie aus dem Xylol mit Spatel und Nadel in ein Schälchen mit absolutem Alkohol und beginne dann mit der Färbung, z. B. der Hämalaunfärbung. Darnach färbe man weitere Schnitte

nach in Kapitel 9 angegebenen Methoden. Endlich schließe man die gefärbten Schnitte nach Kapitel 8 ein.

167. Es ist wichtig, zu wissen, daß Paraffinschnitte auch vor der Paraffinlösung gefärbt werden können, und zwar auch mit in Wasser gelösten Farben. Das Paraffin macht die Schnitte resistenter. Sie färben sich aber viel länger, wie bei gewöhnlichem Verfahren.

168. Es können aber auch die Schnitte vor dem Einschluß untersucht werden, was unter Umständen vorteilhaft ist, namentlich wenn man dieselben aus dem Xylol in Flüssigkeiten von verschiedenem Lichtbrechungsvermögen überträgt und darin auf den Objektträger bringt und untersucht. Häufig bedient man sich hierzu des **Nelkenöls** (besitzt ein starkes Lichtbrechungsvermögen), in welches die Schnitte aus dem Xylol direkt übertragen werden können. Will man in **Glyzerin untersuchen** (siehe auch § 209), dann kommen die Schnitte aus dem Xylol in absoluten Alkohol, von da in 90%igen, 70%igen Alkohol, in destilliertes Wasser, in zu zwei Drittel, dann zur Hälfte mit Wasser verdünntes Glyzerin, je etwa eine Minute, endlich in reines Glyzerin. Kommt es auf Schrumpfung nicht an, so verfahre man in der Reihenfolge: Xylol, Alkohol, Wasser, Glyzerin.

169. Die **Zelloidinschnitte** dürfen nicht mit absolutem Alkohol in Berührung kommen, falls man Zelloidin erhalten haben will, da Zelloidin in starken Alkoholen sich löst. Sie werden also, nachdem sie geschnitten sind, zunächst in ein Schälchen mit 70—80%igem Alkohol gebracht. Die Schnitten können gefärbt (außer in wenigen Farben, die in absolutem Alkohol gelöst sind), ausgewaschen usw., mit 95%igem Spiritus kurze Zeit behandelt (1—3 Minuten, je nach der Dicke des Schnittes) und in Origanumöl, Zedernholzöl z. B., nicht aber in Nelkenöl, welches **Zelloidin lösen** würde, aufgehellt werden. Nach Entfernung des Öles (etwa mit Xylol) erfolgt Einschluß in Kanadabalsam (s. § 206).

170. Als Aufhellungsmittel für Zelloidin wurde zuerst von Hauptmann Urban die konzentrierte Karbolsäure vorgeschlagen. Dies wurde von Weigert mit Erfolg in der Weise modifiziert, daß er auf ein Volumen krystallinischer Karbolsäure, je nach Bedarf, ein, zwei oder drei Volumina Xylol zusetzt und, um das Ganze wasserfrei zu erhalten, verfährt er wie beim absoluten Alkohol (s. § 100). In einzelnen Fällen kann verlangt werden, die Flüssig-

keiten, mit denen der Schnitt gerade in Berührung ist, rasch zu entfernen. In diesen Fällen legt man einen oder mehrere Streifen Fließpapier übereinander auf die Schnitte, welche auf dem Objektträger liegen, dann streicht man mit dem Finger darüber, wobei sich die Schnitte glätten (Welch, 76). Diese scheinbar rohe Prozedur läßt die Schnitte intakt und auf dem Objektträger liegend.

6. Kapitel. Aufkleben.

171. Es ist zweckmäßig, schon der Raum- und Zeitersparnis halber, aber namentlich, um die Schnitte während der Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, dieselben auf den Objektträger aufzukleben. Will man Raum und Material sparen, so klebe man Schnitte auf Deckgläschen. Das empfiehlt sich z. B. bei Behandlung der Schnitte mit teueren Substanzen oder bei Herstellung von Präparaten in einzelnen Schnitten in großer Zahl, z. B. für Kurse. Statt Deckgläschen kann man in diesem Fall auch Plättchen aus Marienglas verwenden. Das fertige Präparat wird schließlich mit dem Marienglas nach unten auf einen Objektträger gelegt und mit einem gewöhnlichen Deckglase zugedeckt.

172. Man gewöhne sich von Anfang an, beim Schneiden mehrerer Schnitte oder Serien, die Schnitte in bestimmter Ordnung, z. B. wie Buchstaben und Zeilen im Buche, aufzulegen. — Um sich die **Reihenfolge der Objektträger** und eine bestimmte Folge der darauf aufgeklebten Schnitte zu merken (was z. B. für Serienschnitte unumgänglich notwendig ist), pflegt man dieselben mit aufeinanderfolgenden Zeichen, Nummern oder Buchstaben zu markieren. Dazu bediene man sich am zweckmäßigsten eines Schreibdiamanten. Bezeichnet wird stets an derselben Stelle des Objektträgers, z. B. in der Ecke rechts unten. — Empfehlenswert sind auch die käuflichen Glastinten, mit welchen man am besten eine große Anzahl von Objektträgern vor Benutzung numeriert. Auch werden Schreibstifte aus hartem Stahl gebraucht.

Die sonst üblichen Mittel zur Bezeichnung der Objektträger, wie gewöhnliche Schreibtinte, Ölstifte usw., sind nicht zu empfehlen, da sie leicht und namentlich bei eventueller Weiterbehandlung verschwinden und dabei die Präparate verunreinigen.

173. Je nach der Wahl der Masse, welche zum Aufkleben verwendet wird, richtet sich die nachfolgende Be-

handlung der aufgeklebten Schnitte. Ist die klebende Masse in Wasser, Alkohol usw. unlöslich, so ist selbstverständlich auch die Färbung der bereits aufgeklebten Schnitte nicht ausgeschlossen.

Man kann Paraffinschnitte, auch Paraffinzelloidinschnitte mit Wasser (auch sehr schwachem Spiritus, Altmann) oder Eiweiß aufkleben; weniger gebräuchlich sind Schellack, Kollodium, Gelatine; Zelloidinschnitte nach dem Verfahren von Weigert, Obregia, v. Apáthy usw.

174. Aufkleben mit Wasser (nur im Notfall, wenn die Objektträger absolut nicht benetzt werden, mit sehr schwachem **Spiritus**) ist die einfachste Methode, die aber einer gewissen Vorsicht bedarf und deshalb in den Händen der Anfänger nicht immer dasjenige leistet, was sie leisten soll; sie ist von Gaule (81), Altmann (verdünnten Spiritus) und Gulland (91) (Wasser) empfohlen.

Die Fixierung der Schnitte beruht in diesem Falle auf einer Kapillar-Attraktion. Mit Osmiumsäure und Osmiumsäuregemischen fixierte Objekte lassen sich nur unsicher oder nicht mit Wasser aufkleben.

175. Sehr sorgfältig gereinigte Objektträger (s. § 176) werden mit Wasser oder sehr verdünntem Spiritus gleichmäßig benetzt. Man breite nun die Paraffinschnitte auf der Wasserschicht aus. Dann **erwärme** man (falls die Schnitte sich noch nicht ausgebreitet haben), den Objektträger leicht auf dem Bornschen Tischchen (s. weiter; Paraffin darf nicht schmelzen), wobei sich die **Schnitte glatt legen,** entferne mit Filtrierpapier die überschüssige Flüssigkeit von den Seiten, ordne die Schnitte definitiv, etwa mit einem Pinsel, und lasse die Schnitte, die gut vor Staub geschützt werden müssen, 24 Stunden lang, eventuell im Thermostaten, bei 35° C trocknen. (Thermostat bei trockener Witterung nicht unbedingt nötig.) Die so getrockneten Schnitte können bei einer gewissen Vorsicht allen möglichen Behandlungen unterzogen werden.

Man kann so fixierte Schnitte, sagt Altmann, sogar künstlich verdauen, ohne daß die unveränderten Teile des Schnittes ihre Lage zum Objektträger im geringsten wechseln.

176. Eine sehr einfache und außerordentlich wirksame Methode, um das beim Aufkleben mit Wasser hinderliche Fett von Objektträgern radikal zu entfernen, ist von Helly empfohlen worden: man zieht die Objektträger durch eine rußfreie Flamme, und das Fett und der organische Schmutz verbrennen.

177. Mit Vorteil legt man die Objektträger mit den auf Wasser ausgebreiteten Schnitten auf einfache **Wärmtische** von Metall (Born, 88), siehe Fig. 1, deren Tischplatte, gewöhnlich aus Eisenblech angefertigt, am einen Ende aufgebogen ist; eine unter den aufgebogenen Arm des Tisches gestellte Lampe läßt die Temperatur des Tisches beliebig regulieren. Man wählt einen nach Bedarf erwärmten Streifen des Tisches und legt darauf auf kurze Zeit einen Objektträger mit Schnitten. Die Schnitte legen sich, noch ehe das Paraffin zum Schmelzen kommt (was sorgfältig vermieden werden soll), ganz glatt. Dann trocknet man die Schnitte, wie angegeben worden, usw.

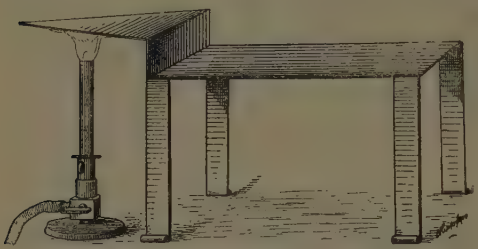


Fig. 1. Wärmetischchen nach G. Born.

178. Handelt es sich nicht um Serien, so kann man **Paraffinschnitte** direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmem Wasser, ca. 35°, übertragen; hier legen sie sich **glatt.** Man fängt dieselben mit dem Objektträger aus dem Wasser auf und läßt sie auftrocknen; ebenso wird mit Objektträgern, welche vorher mit Eiweiß sehr dünn bestrichen wurden, (§ 181) verfahren.

179. P. Mayer (96) empfiehlt, die Paraffinschnitte statt mit Wasser oder schwachem Alkohol mit der **Farblösung** selber **aufzukleben.** Dabei wirkt der Farbstoff, wenn man die Schnitte, um sie sich dehnen zu lassen, in die Wärme bringt, meist ebenso rasch wie energisch, und so lassen sich Färbungen erzielen, die sonst nicht leicht zustande kommen. Man muß nur dafür Sorge tragen, daß die Schnitte auf der Farblösung anfänglich schwimmen, daß diese später gut mit Wasser abgespült wird, und daß die Schnitte wirklich ganz trocken sind, bevor man sie in Xylol (zum Entfernen des Paraffins) und von da in Balsam überträgt.

180. Diese wichtige Beobachtung, daß die Schnitte, ohne daß Paraffin entfernt zu werden braucht, auch für wässerige Lösungen permeabel sind, kann mit kleinen

Modifikationen in verschiedenen Fällen nutzbar gemacht werden, so beim Färben loser Schnitte, bei Behandlung der Paraffinschnitte mit Verdauungsflüssigkeiten, Silbernitrat etc.

181. Wegen der Raschheit des Verfahrens und Sicherheit der Resultate noch jetzt beliebt ist das von P. Mayer (83) eingeführte **Aufkleben mit Eiweiß.** Möglichst frische Hühnereier, etwa 3 Stück, werden aufgeschlagen, das Eiweiß in eine Schüssel abgelassen, wobei man sorgfältigst die Verletzung der Dotterhaut des Eigelbs zu vermeiden hat. Es wird einige Zeit mit einem Holzstabe geschlagen, und durch Filtrierpapier filtriert. Da Eiweiß sich ziemlich rasch zersetzt, so ist das Hinzufügen eines Kampferstückchens sowohl zu der filtrierenden Flüssigkeit, als zu dem Filtrat sofort anzuraten. Eiweiß filtriert sehr langsam, man erhält aber doch nach 12 Stunden ein paar Kubikzentimeter Eiweiß. Zu diesem füge man ebensoviel des chemisch reinen Glyzerins, um das Präparat vor Vertrocknung zu schützen, dann ebenfalls ein kleines Stückchen Kampfer oder Natriumsalizylat hinzu und bewahre das Ganze in einem gut vor Staub geschützten Gefäß. Nachdem sich Glyzerin mit Eiweiß gemischt hat, was man durch Schütteln beschleunigen kann, ist es zum Gebrauche fertig. Man kann das Filtrieren beschleunigen, wenn man Eiweiß und Glyzerin zu gleichen Teilen schon vor dem Filtrieren mischt.

182. Es wird auf einem gut gereinigten Objektträger etwa mit einem feinen Pinsel eine möglichst dünne Schicht des Eiweißes aufgetragen und mit reiner Fingerbeere oder einem Glasstabe geglättet. Auf diese so präparierte Fläche werden die Paraffinschnitte gelegt und eventuelle Falten mit einem weichen Pinsel ausgeglichen und so **aufgedrückt,** daß sich keine Luftblasen zwischen Schnitt und Eiweiß befinden. Dabei liegt der Objektträger auf dem Tisch.

Will man einen vorgeschriebenen Raum, etwa die Größe eines Deckglases, vollkommen ausnützen, so kann man denselben auf einem Stück Papier mit Bleistift oder ähnlichem vorzeichnen und den Objektträger in passender Lage daraufleg en.

Ist eine gewünschte Menge Schnitte auf der so präparierten Eiweißfläche sortiert und aufgedrückt, so erwärme man das Ganze bis auf die Koagulationstemperatur des Eiweißes.

Dies geschieht, indem man den Objektträger kurze Zeit über einer kleinen Spiritus- oder Gasflamme erhitzt, bis Paraffin geschmolzen ist. Diese Eiweißmethode gestattet ein rasches und sicheres Arbeiten, man muß sich nur hüten, durch zu starke Erhitzung das Präparat zu verderben.

Die Schnitte kleben nun so fest, daß z. B. fließendes Wasser dieselben nicht wegschwemmt; es können damit alle folgenden Operationen, wie sie im weiteren angegeben werden, vorgenommen werden.

183. Bestimmten Reagenzien dürfen jedoch mit Eiweiß aufgeklebte Schnitte nicht ausgesetzt werden, und zwar derartigen, welche **Eiweiß lösen** und dadurch die Schnitte ablösen würden. Solche sind starke Säuren und Alkalien.

Man könnte also beispielsweise mit Borax-Karmin 12 bis 24 Stunden färben, ebensolange mit einem $^1/_2$ % Salzsäure enthaltenden Spiritus ausziehen, mit Spiritus waschen, mit absolutem Alkohol entwässern und einschließen. Man würde aber beispielsweise den übrigens nur für sehr spezielle Zwecke brauchbaren **Karmin von Schneider** (Karmin bis zur Sättigung gelöst in einer 45 %igen Essigsäure) selbstredend aus angedeuteten Gründen (wegen der dabei mitwirkenden Essigsäure) zu vermeiden haben.

Ferner sind es bestimmte Farben, welche Eiweiß ablösen, z. B. Pikro-Karmin; andere nur in stärkeren Lösungen, z. B. Benzo-Azurin.

184. Als Eiweißlösung verwertet M. Heidenhain eine schwache alkoholische Lösung von **Serumalbumin** (Albumin aus Blut, puriss., von Merk in Darmstadt). Das Albumin wird in einer Reibschale zu feinstem Mehle gerieben; 4 g davon werden auf 100 Wasser gegeben und die Mischung kräftig geschüttelt. Darauf läßt man 24 Stunden lang absetzen, dekantiert und filtriert die Lösung und versetzt sie schließlich mit dem gleichen Volumen 50%igen Alkohols. Man klebt mit dieser sehr dünnflüssigen Lösung wie mit Wasser, indem man sie zwischen Schnitt und Objektträger zufließen läßt. Die Schnitte läßt man auf einem Bornschen Tischchen sich strecken, läßt die überschüssige Flüssigkeit ablaufen und trocknet im Thermostat bei 35°. Heidenhain (05).

185. Henneguy, auch Reinke (95), beschicken Objektträger, resp. Deckgläser oder Glimmerplatten mit sehr wenig Eiweißglyzerin und verstreichen dasselbe mit der Fingerbeere, bis scheinbar kaum eine Spur mehr vom Eiweiß vorhanden ist. Dann werden die Objektträger vor der Benutzung im Thermostat bei 70° (besser als über der

BOSTON MEDICAL LIBRARY SEP 3 1918

Flamme), um das Eiweiß zu koagulieren, erwärmt. Diese Platten werden nun mit Wasser beschickt, dann folgt vorsichtiges Erwärmen, bis sich die Schnitte faltenlos ausgebreitet haben. (Paraffin darf nicht schmelzen). Dann Trocknen im Thermostat bei 30—35° C, einige Stunden genügen in der Regel.

186. Enthalten Schnitte viel Bindegewebe oder sind sie zu groß, so schlägt Michaelis folgenden Weg vor: Die Schnitte werden auf Wasser von etwa 40° C **glatt gemacht,** mit dem Objektträger aufgefangen und mit glattem Schreibpapier fest an denselben angedrückt. Man zieht dann das Papier mit dem Schnitt ab, schneidet das Papier dicht um den Schnitt herum ab und klebt den Schnitt samt Papier fest andrückend auf einen anderen Objektträger mit Eiweiß § 181. Man bringt das Eiweiß zum Koagulieren etc. Bei Weiterbehandlung fällt das Papier ab.

187. Kleben die Schnitte aus irgendeinem Grunde nicht fest genug (nach Wasser-, Eiweißaufklebung), so kann man die Schnitte in der Weise retten, daß man sie mit Kollodium 2, Äther 2, Rizinusöl 4 Raumteile mit der Fingerbeere dünn überstreicht. Dann wendet man längere Zeit Xylol und kurze Zeit Alkohol an und fährt weiter fort. (Filatoff.)

188. Die in Zelloidin-Paraffin eingebettet gewesenen Schnitte können wie Paraffinschnitte mit Wasser aufgeklebt werden. Es empfiehlt sich jedoch (v. Apáthy), die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in $^1/_2$%ige Zelloidinlösung in Alkohol-Äthyläther (3 : 1) einzutauchen. Sind dieselben getrocknet, so können sie in gewöhnlicher Weise weiter behandelt werden.

189. Schnitte, mit Zelloidin eingebetteten Objekten entnommen, werden feucht geschnitten und können in der bisher angegebenen Weise nicht aufgeklebt werden.

Eine von Weigert (85) besonders für das Zentralnervensystem und namentlich für große Schnitte ausgearbeitete Methode läßt jedoch auch hier die **Behandlung vieler Zelloidinschnitte auf einmal** zu.

Die Schnitte werden mit Streifen aus ungeleimtem Papier (sog. Klosettpapier) in einer bestimmten Reihenfolge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt; sie bleiben daran haften, und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt den Schnitten nicht

trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%igem Alkohol befeuchtete Lage von Fließpapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend großen Glasplatte dünnflüssiges Kollodium (welches man eventuell mit Schwefeläther nach Wunsch verdünnen kann) nach Art, wie es die Photographen tun, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%igem Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise, wie die erste, auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fließpapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken geworden, so muß man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht von der Glasplatte abgehen und miteinander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschließen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden und so, wenn nötig, einzelne Schnitte isolieren.

190. Nach einer in letzter Zeit oft angewandten **Methode von Obregia** (90) werden Zelloidinschnitte zunächst auf Papierstreifen, wie vorhin, und dann auf **Zuckerplatten** überführt. Letztere werden in folgender Weise bereitet: Gut gereinigte Glasplatten werden mit einer sirupdicken Lösung von gewöhnlichem Zucker (in Wasser oder ca. 30%igem Alkohol) übergossen oder besser mit einem Pinsel bestrichen. Dann werden die Platten in einem Thermostat bei ca. 30° getrocknet. Die Oberfläche des Zuckers muß an gelungenen Platten glatt erscheinen, und die Zuckerschichte darf keine Blasen haben. — Die Schnitte werden mit dem Papier auf die Zuckerplatten gelegt und leicht angedrückt, dann wird das Papier langsam abgehoben, so daß die Schnitte am Zucker kleben bleiben. Ist der an den Schnitten haftende Alkohol zum größten Teil verdunstet, so werden die Schnitte mit einer mitteldicken Zelloidin-

lösung in dünner Schicht übergossen. Ist diese getrocknet, so werden die Platten in Wasser gelegt; der Zucker löst sich und damit auch die durch die aufgegossene Zelloidinschicht als Serie vereinigten Schnitte, welche in gewöhnlicher Weise gefärbt und weiter behandelt werden können.

Vermittelst dieser Methode kann man auch Paraffinschnitte, wenn es nötig ist (z. B. zur Weigertschen Färbung), in Zelloidinschnitte umwandeln.

191. Statt der erwähnten Zuckerlösung empfiehlt **Petersen** die von Bauer vorgeschlagene Lösung: Zuckerlösung — 1 Zucker auf 1 Wasser — 300 ccm, Alkohol von 80% 200 ccm, Dextrin auf 1 Wasser 100 ccm. Die Substanzen sind in der angegebenen Reihenfolge zu mischen.

192. v. Apáthy (87, 88) bringt die Zelloidinschnitte auf Bergamottöl, das grün sein, nicht nach Terpentinöl riechen soll und sich mit 90%igem Alkohol vollkommen mischen muß. Ehe die ausgebreiteten Schnitte untersinken, zieht man einen nach dem anderen mit einer Nadel an ihren Platz auf ein in das Öl eingetauchtes Stück (so breit wie der Objektträger und dreimal so lang wie das Deckglas) Pauspapier. Dann hebt man letzteres aus dem Öl, läßt abtropfen, trocknet die andere Seite des Papiers auf Filtrierpapier, legt es dann mit den Schnitten auf einen ganz trockenen Objektträger und drückt es mit Filtrierpapier fest. Dann rollt man es so auf, daß die Schnitte auf dem Glase bleiben, wo sie mit einem Streifen glatten Fließpapiers durch Andrücken vom überschüssigen Bergamottöl befreit werden. Gefärbte Schnitte werden direkt mit Kanadabalsam eingeschlossen, erst zu färbende setzt man Dämpfen von Alkohol und Äther einige Minuten aus, bringt sie auf 15 Minuten in 90%igen Alkohol und kann dann in Farben färben, welche 70%igen oder stärkeren Alkohol enthalten. In wässerige Lösungen kann man die Schnitte bringen, wenn man sie auf dem Papier so ordnet, daß sich das Zelloidin an den Rändern deckt, damit sie durch den Ätherdampf verkleben und sich zusammen als Membran, die dann weiter behandelt wird, im Wasser vom Glase abheben.

193. v. Apáthy (89) verfährt so, daß er die Schnitte auf dem mit gelbem Vaselin eingefetteten und mit 70 bis 90%igem Alkohol benetzten Messer selbst entsprechend der Deckglasgröße mit einer Nadel ordnet. Die Schnitte müssen mit den Zelloidinrändern übereinandergreifen oder sich mindestens berühren. Abtrocknen der Schnitte mit Filtrierpapier und Bepinseln mit konzentrierter Zelloidin-

lösung, 5 Minuten verdunsten lassen. Dann benetzt man sie mit 70%igem Alkohol und schneidet weiter oder legt, wenn man nicht mehr schneiden will oder das Messer ganz voll ist, das Messer samt den Schnitten in 70%igen Alkohol. Darin wird das Zelloidin als einheitliche Membran gehärtet, welche mit einem Skalpell vom Messer weggenommen und weiter behandelt wird. Man kann solche Membranen direkt auf den Objektträger legen, die Ränder mit Äther und Alkohol festkleben und dann färben.

194. Um die Zelloidinschnitte direkt auf dem Objektträger zu befestigen, empfiehlt **v. Apáthy** folgende **Methode:** ein ganz reiner Objektträger wird mit einer dünnen (2%igen) Zelloidinlösung bepinselt und getrocknet. — Damit die Zelloidinschicht bei folgenden Prozeduren nicht vom Objektträger sich ablöst, bringe man vorher auf diesem ein paar dünne Linien mit verdünntem Hühnereiweiß (etwa entsprechend den Deckglasrändern, Eiweißrahmen) an; man läßt das Eiweiß durch Erhitzen koagulieren. An den rauhen Eiweißstreifen haftet das Zelloidin nun fest. — Auf die so präparierte und befestigte Zelloidinschicht werden die (etwa auf Wasser) glatt gemachten Schnitte nach Wunsch geordnet, mit feinstem Fließpapier getrocknet und mit Alkoholäther-Dämpfen kurze Zeit in geschlossenem Gefäß behandelt, wodurch die Schnitte an die Zelloidinschicht anschmelzen. Weitere Behandlung, wie gewöhnlich, unter Vermeidung von zelloidinlösenden Flüssigkeiten wie Alkohol von 90% aufwärts, Äther etc.

195. Argutinsky (1900) empfiehlt folgendes Verfahren zum Aufkleben von Zelloidinschnitten. Eine Anzahl sorgfältig gereinigter Objektträger wird (wie beim Aufkleben von Paraffinschnitten, siehe § 181) mit einer gleichmäßig dünnen Eiweißschicht beschickt und letztere durch Erhitzen auf beinahe 100° C zum Gerinnen gebracht. Die in 70%igem Alkohol geschnittenen Zelloidinschnitte werden in einem Schälchen mit 70%igem Alkohol sorgfältig entfaltet, dann auf den, wie angegeben, vorbereiteten Objektträger übertragen und geordnet. Dann wird der den Objektträger und die Schnitte reichlich bedeckende Alkohol am Rande des Glases mit Filtrierpapierblättchen vorsichtig abgesogen. Um nun das Aufkleben der Schnitte zu bewirken, wird ein etwa acht bis zwölfmal gefalteter Streifen von glattem Filtrierpapier auf das mit Schnitten beschickte Objektglas gelegt. Durch ziemlich starkes Streichen mit dem Finger wird das Filtrierpapier an die

noch nasse Oberfläche des Objektglases gepreßt, wodurch der Alkohol aufgesaugt wird und die Schnitte an die Eiweißschicht sorgfältig angedrückt werden. Dann wird der Filtrierpapierstreifen abgenommen, und der Objektträger kommt mit den fest klebenden Schnitten sofort (damit sie nicht austrocknen) in ein Gefäß mit destilliertem Wasser, um sogleich oder später weiter behandelt zu werden. Sie ertragen alle Flüssigkeiten, sofern solche das Eiweiß oder das Zelloidin nicht auflösen (starke Säuren und absoluter Alkohol z. B. sind ausgeschlossen). Will man erst nach Tagen färben, so bewahrt man die Objektträger in 70%igem, resp. schwächerem Alkohol, auf.

196. Tellyesniczky (04) nimmt statt des Eiweißglyzerins eine sehr stark mit destilliertem Wasser verdünnte (1 : 5) Eiweißlösung ohne Glyzerin.

197. Rubaschkin klebt Schnitte mit Eiweißglyzerin (2 : 1) auf. Die Objektträger werden dünn bestrichen, die Schnitte darauf glatt gelegt und mit einer Mischung von Nelkenöl und Anilin zu gleichen Teilen übergossen, bis sie klar und durchsichtig werden. Das Öl wird abgegossen und der Objektträger mit den nunmehr geklebten Schnitten in 90%igen Alkohol getaucht, dann in 70%igen Alkohol und kann nunmehr mit allen möglichen Flüssigkeiten behandelt werden, ohne daß die Schnitte sich ablösen.

198. Gestützt auf die Tatsache, daß **Gelatine** mit Formol behandelt eine unlösliche Verbindung gibt, beschreibt Olt eine für alle Objekte passende **Klebemethode.** 10 g Gelatine werden in 100 ccm Wasser auf dem Wasserbade gelöst und mit dem Eiweiß eines Hühnereies versetzt, damit nach weiterem Kochen unter Umrühren der Mischung alle Verunreinigungen durch das gerinnende Eiweiß ausgefällt werden. Man filtriert die Mischung und setzt 10 ccm einer 5%igen Phenollösung zu. Die gewonnene klare Phenolgelatinelösung ist in einem weithalsigen Gefäß aufzubewahren. Ein Stückchen Gelatine wird mit dem Finger auf dem Objektträger verteilt, und die Schnitte werden darauf gelegt und geglättet. Sind die Schnitte nicht trocken, wie z. B. Zelloidinschnitte, Gefrierschnitte usw., so entfernt man die Flüssigkeit vorsichtig durch Absaugen mit Fließpapier, aber, wenn die Schnitte es gestatten, mit Fließpapier glatt drückend und setzt das Ganze einige Zeit der Einwirkung von Formalindämpfen und dann einer 10%igen Formalinlösung aus. Die Schnitte sind nun

befestigt und können allen möglichen Prozeduren ausgesetzt werden. Paraffin und Zelloidin können in bekannter Weise gelöst werden. Vgl. Kraus, Arch. f. Dermatol. u. Syph. 06.

7. Kapitel. **Paraffinbefreiung.**

199. Die **Befreiung** des Schnittes von **Paraffin** geschieht durch Lösung desselben in einer der oben (§ 99) angegebenen Flüssigkeiten; billig und wohlgeeignet hierfür ist **Xylol.**

Der Objektträger mit den (nach Kapitel 6) aufgeklebten Schnitten wird auf kurze Zeit in ein Glas (siehe § 235) mit Xylol gesteckt. Gleichzeitige Weiterbehandlung mehrerer Objektträger auch mit anderen Flüssigkeiten ist in Porzellanschalen mit Rillen (siehe § 235) oder einem analog mit diesen gebauten Behälter möglich.

200. Mit Eiweißglyzerin aufgeklebte Schnitte müssen stets vor der Weiterbehandlung und dem Einschließen aus dem Xylol noch einmal in absoluten Alkohol überführt werden, um Glyzerin in Lösung zu bringen Man hat vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, wenn man aus dem Xylol direkt in Xylol-Kanadabalsam einschließt, da ja das Aufklebe-Eiweiß mit Glyzerin gemischt ist. Dieses, wenn es auch sehr wenig ist, mischt sich nicht mit Xylol und erzeugt Flecken.

8. Kapitel. **Einschließen.**

201. Nachdem die Schnitte in der bisher angegebenen Weise behandelt worden sind, können sie untersucht werden. Hierbei empfiehlt es sich, namentlich gefärbte Schnitte in stärker lichtbrechenden Medien zu betrachten, z. B. Xylol, Nelkenöl, Glyzerin (siehe § 168).

202. Es ist wünschenswert, Schnitte für spätere Untersuchungen aufbewahren zu können. Die Schnitte werden zu diesem Zweck in eine **Einschlußmasse** eingeschlossen, welche durchsichtig sein muß und die Schnitte wie die Farben, womit dieselben gefärbt sind, möglichst wenig verändern soll. Viele Medien eignen sich hierzu wenig. Xylol verdunstet rasch, Nelkenöl ändert manche Farben. Glyzerin hat sich für viele Fälle zweckdienlich erwiesen.

Bei flüssig bleibenden Einschlußmassen muß der Rand des Deckgläschens mit dem Objektträger durch eine Kitt-

masse verbunden werden: Umranden, um das Abfließen derselben zu verhindern.

203. Die besten **Einschlußmassen** sind **Harze,** z. B. Kanadabalsam, welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden, dann trocknen, fest werden und damit zugleich das Deckgläschen festhalten. Man muß jedoch im Auge behalten, daß die Harzmassen ein hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen und daher ungefärbte Gewebe sehr wenig deutlich erkennen lassen.

204. Clarke Lackhart (57) hat zuerst die Methode der Aufhellung mit Terpentinöl und des Einschließens in Kanadabalsam angegeben.

205. Anfertigung des Kanadabalsams. Der im Handel käufliche **Kanadabalsam** ist meist in Terpentinöl gelöst. Er muß in einer Schale bei nicht zu hoher Temperatur zum **Trocknen** eingedampft werden und wird dann wieder in Xylol gelöst. Anstatt Xylol können auch andere Lösungsmittel, z. B. Chloroform, verwendet werden.

Der so zubereitete Kanadabalsam wird in Flaschen aufbewahrt, deren Stopfen einen bis nahe dem Boden der Flasche reichenden Glasstab trägt, um ein tropfenweises Entnehmen des Kanadabalsams zu gestatten.

206. Einschließen in Kanadabalsam. Der Schnitt, welcher in Xylol oder einer der in § 99 angeführten Flüssigkeiten gewesen sein muß, wird auf den Objektträger gebracht, ein Tropfen Kanadabalsam kommt darauf, und ein Deckglas wird unter Vermeidung von Luftblasen aufgelegt. Kleine Luftbläschen schaden nicht, sie verschwinden später von selbst.

Aufgeklebte Schnitte, die nach § 199 behandelt sind, kommen, um den darin befindlichen Alkohol zu entfernen, noch einmal in Xylol, dann läßt man abtropfen (nicht trocknen!), bringt einen Tropfen Kanadabalsam auf den Schnitt und deckt rasch mit einem Deckgläschen zu. Man muß sich hüten, den Objektträger anzuhauchen, da das hierbei sich niederschlagende Wasser eine störende Trübung ergibt.

Die Präparate sind in den nächsten Tagen und Wochen bisweilen nachzusehen und, wenn durch Verdunstung des Xylols der Raum unter dem Deckglas nicht mehr gefüllt ist, nachzugießen. Dies geschieht, indem man einen Tropfen Kanadabalsam an den Rand des Deckglases auf den Objekt-

träger setzt. Man kann durch vorsichtiges Erwärmen des Präparats über der Flamme und vorsichtiges Drücken auf das Deckglas nachhelfen. (Man kann auch die Blasen zuerst mit Xylol füllen und dann am Rande Kanadabalsam zusetzen, welcher an Stelle des verdunsteten Xylols eingesaugt wird.)

207. Sollen **Präparate,** welche noch Spuren von Terpentinöl enthalten, rasch **trocknen** — und dies kann nötig werden, wenn sie mit Ölimmersionen bald nach der Anfertigung derselben betrachtet werden sollen, und ein Abwischen des Öltropfens ohne Zerstörung des Präparats wünschenswert ist —, so können solche Präparate auf etwa 24 Stunden und länger in einen Thermostat bei 40° C ohne Schaden gebracht werden.

Von selbst trocknen die Präparate desto rascher, je dicker der angewandte Kanadabalsam war, d. h. je weniger er Xylol oder dgl. enthielt; meist genügen etwa 14 Tage, um die Präparate wenigstens transportfähig zu machen.

208. Statt Kanadabalsam kann man in derselben Weise **Dammarharz** (Pfitzner, 82) anwenden. Das letztere, namentlich in Benzin und Terpentinöl zu gleichen Teilen gelöst, hat den Vorzug, nicht so stark wie Kanadabalsam aufzuhellen. Dammarharz wird nach Jahren trüb.

209. Einlegen in Glyzerin. Wird jetzt hauptsächlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. Es bietet ferner den Vorteil, daß es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe leichter erkennen läßt.

Auf die Schnitte, welche aus Alkohol, oder besser, aus Wasser kommen müssen, wird ein Tropfen Glyzerin gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Dann wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, umrandet (siehe § 214).

210. Statt Glyzerin wurde früher in derselben Weise **Kali aceticum** verwendet. Man gebraucht eine 33%ige Lösung in destilliertem Wasser (M. Schultze, 71).

211. O. Schultze (07) wendet **Kali aceticum, Methylalkohol und Wasser** zu gleichen Teilen an.

212. Will man Präparate aus Toluol, Xylol etc. in weniger wie Kanadabalsam brechende Medien einschließen, so verwende man **Paraffinum liquidum.** In dieser sirupähnlichen Flüssigkeit, welche nicht, wie Glyzerin z. B.,

hygroskopisch ist, sieht man feinere Strukturen ebenfalls deutlicher wie in Kanadabalsam. Für Dauerpräparate muß das Deckgläschen umrandet werden.

213. Für spezielle Zwecke, z. B. Amyloidfärbung, wird **Lävulose** als Einschlußmittel gebraucht. Fruchtzucker wird mit etwas weniger wie gleichem Volumen Wasser angerührt und in den Thermostat bei 37° C auf 24 Stunden gestellt. Die Lösung muß ganz dick sein. (Ehrlich.)

214. Die **Umrandung** geschieht, indem man einen dicken Draht über der Flamme erhitzt, mit demselben von der Umrandungsmasse einen Tropfen abschmilzt und diesen zunächst an eine Ecke des Deckgläschens bringt, so daß er Objektträger und Deckgläschen verbindet, dann an die anderen Ecken, und nun die Seiten zuschmilzt, indem man mit dem heißen Stabe den Tropfen an den Seiten entlang führt. Der Verschluß soll ein vollständiger sein, dabei aber muß beachtet werden, daß der Rand nicht zu weit auf die Fläche des Deckglases übergreift.

Vorbedingung für das Umranden ist, daß der Tropfen Einschlußflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases hervorquillt. Ist dies doch geschehen, so muß er vor der Umrandung sorgfältig abgewischt werden.

Als **Umrandungsmassen** können dienen:

215. Paraffin. Dasselbe ist für den dauernden Einschluß wenig zu empfehlen.

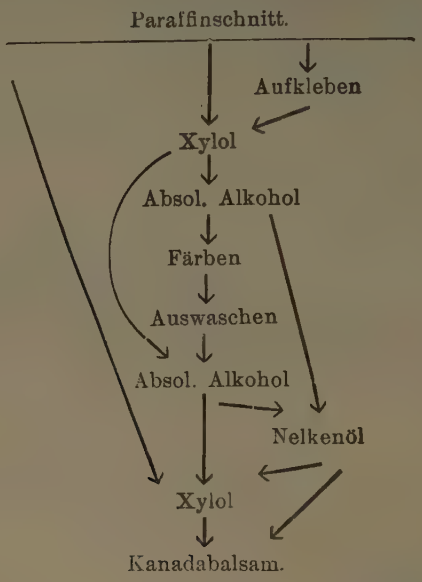
216. Paraffin und Kanadabalsam (v. Apáthy, 89). Gleiche Teile Paraffin (von 60° Schmelzpunkt) und Kanadabalsam werden in einer Porzellanschale so lange erhitzt (Vorsicht!), bis keine Terpentindämpfe mehr aufsteigen, oder mit terpentinfreiem Kanadabalsam zu gleichen Teilen in der Wärme gemischt (s. § 205).

217. Der **Krönig**sche **Lack** (86) ist eine sehr gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht, da die Masse Feuer fangen kann!) Man kann die Masse durch Gaze heiß filtrieren.

Vor Anwendung einer Ölimmersion empfiehlt es sich, den Rand mit alkoholischer Schellacklösung zu überstreichen.

218. Der Dr. **Kaiser**sche **Maskenlack,** der sich namentlich für das Umranden mit dem Drehtisch (runde Deckgläschen) empfiehlt, ist käuflich.

219. Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts.



9. Kapitel. Die Färbung.

220. Betrachtet man einen dünnen Schnitt, welcher in der bisher angegebenen Weise angefertigt und eingeschlossen ist, so sieht man noch sehr wenig, da das Lichtbrechungsvermögen allein die verschiedenen Gewebe nicht genügend unterscheiden läßt.

Deutlicher sieht man gefärbte Objekte, z. B. natürliche Färbungen, Pigmente, Pigmentzellen. Viele Fixierungsmethoden färben bestimmte Gewebe in einer Weise, welche dieselben deutlicher erkennen läßt, z. B. Osmiumsäure, Chromverbindungen, Pikrinsäure.

Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser Farbstoffe, um die Gewebe zu färben.

221. Es ist ein erstrebenswertes Ziel einer auf wissenschaftlicher Erkenntnis basierenden Färbetechnik, sich darüber klar zu werden, mit welchen Vorgängen wir es bei den verschiedenen Färbungen zu tun haben. Doch ist dies heute noch keineswegs für alle Fälle sichergestellt.

Eine Reihe von Färbungen beruht zweifellos auf chemischen Vorgängen, so z. B. die Berlinerblaureaktion zum Nachweis von Eisen in Schnitten, ferner die Reduktion von Osmiumsäure durch bestimmte Fette usw. In solchen Fällen sind wir berechtigt, von einer **mikrochemischen Färbung** zu sprechen.

222. Wenn wir also auch die Mehrzahl der Färbungen nicht als mikrochemische Reaktionen bezeichnen dürfen, so haben dieselben doch den Wert einer **tinktoriellen Reaktion** und gestatten uns, Schlüsse zu ziehen, die unter Umständen an Sicherheit hinter den durch mikrochemische Reaktionen gestützten nur wenig zurückbleiben. Wenn es z. B. gelingt, vermittelst bestimmter Methoden bestimmte Gewebe und Gewebsteile, z. B. einige Kernbestandteile, Zellgranula, elastische Fasern, kollagene Bindegewebsfibrillen, Schleim, Fett und ähnliches so zu färben, daß eben nur diese allein und zwar stets gefärbt werden, so können wir mit großer Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß wir es, wenn eine solche Färbung in einem anderen Präparat auftritt, auch wieder mit demselben Gewebsteil, demselben Stoffe zu tun haben, namentlich wenn auch andere Eigenschaften des untersuchten Objekts, ihr Verhalten gegen Lösungsmittel, Verdauungsflüssigkeiten, optische Eigenschaften ebenfalls übereinstimmen. Dabei ist aber stets im Auge zu behalten, daß sehr oft ganz verschiedene Gewebsteile ein gleiches Verhalten gegen Farbstoffe zeigen können. Es würde daher zu falschen Resultaten führen, wollte man sich gleichfärbende Dinge stets für gleich halten. Solche Schlüsse dürfen nur bei besonderer Vorsicht und einer gewissen Erfahrung gezogen werden. Als sicherster Grundsatz der Färbetechnik muß daher gelten: Was sich bei gleicher Behandlung verschieden färbt, ist auch verschieden.

223. Über das **Wesen der Färbung** herrschen die allergrößten Meinungsverschiedenheiten, sowohl im allgemeinen, als speziell auf histologischem Gebiet. Die während der Färbung stattfindenden Prozesse sind schon als Tatsachen schwierig festzuhalten, da die Chemie und Physik der Zelle und ihrer Bestandteile sehr wenig bekannt und die in Frage kommenden Färbungen in der Regel sehr kompliziert sind. Man ist also vorläufig in diesen Sachen auf reine Empirie angewiesen, da die existierenden allgemeinen Theorien keinen heuristischen Wert haben; daß bei rein theoretischen Forschungen eine stattliche Anzahl

praktisch wichtiger Tatsachen und ursächliche Zusammenhänge zu Tage befördert worden sind, ist besonders hervorzuheben. Heidenhain (03) leugnet die Möglichkeit der Entstehung einer Theorie der Färbung auf synthetischem Wege, weil die in Betracht kommenden Stoffe zu mannigfaltig sind (Enzykl. p. 335). Auf alle Fälle gehören derartige Untersuchungen in die Hände »gewichtiger Fachleute der Chemie« (Heidenhain 03c), welche mit physikalischen Kenntnissen ausgerüstet, tüchtige Histologen sind. Näheres über das Thema: Fischer (99), Heidenhain (02, 03, 03a, b, c, . .), Bethe (05).

224. Da von verschiedenen Fabriken unter demselben Namen oft nicht dieselben Farbstoffe geliefert werden, so ist zu beachten, daß sich die folgenden Angaben auf Farbstoffe beziehen, welche von Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig bezogen wurden.

225. Man hat schon früh bemerkt, daß es bestimmte Gewebsteile sind, welche eine Reihe von Farbstoffen mit größerer Intensität aufnehmen und festhalten als andere; solche sind z. B. die Kerne. Kernfärbung.

Um eine gute Färbung, z. B. **Kernfärbung,** zu erhalten, ist das Verfahren stets folgendes: Man bringt den Schnitt in die betreffende Farbstofflösung. Nachdem dieselbe eine bestimmte Zeit eingewirkt hat, überträgt man den Schnitt in eine Flüssigkeit, in welcher der überschüssige Farbstoff in Lösung geht, z. B. Wasser oder Alkohol; man wäscht den Schnitt aus. Die Kerne sind es dann, welche allein den Farbstoff festhalten, und zwar meist nur ein Teil des Kerns, das Chromatin.

226. Läßt man den Schnitt nur so lange in der (gewöhnlich sehr verdünnten) Farbe, bis die Färbung eine genügende ist, so spricht man von **progressiver** Färbung; beläßt man ihn länger darin, bis er überfärbt ist, in welchem Fall man dann mit geeigneten Flüssigkeiten auswaschen (differenzieren) muß, so spricht man von **regressiver Färbung.** Letzteres Verfahren ist besonders für die Färbung mit manchen Teerfarbstoffen (siehe diese) von großer Bedeutung.

227. Man spricht auch von einer **substantiven** und **adjektiven Färbung.** Wenn die Objekte unmittelbar aus einer Farblösung sich tingieren, so färben sie sich substantiv; wenn sie sich aber erst nach vorausgegangener Behandlung mit einem anderen Stoff, den man Beize nennt, färben, dann spricht man von einer adjektiven Färbung.

228. Die regressiven Färbungen geben nur in sehr geübten Händen annähernd konstante Resultate. »Ich erkläre ohne Bedenken, daß vorsichtig ausgeführte Karmin- und Hämatoxylinfärbungen (Delafield) bei progressiver Verwendung gewöhnlich weiter führen als ungenügend geleitete regressive Anilintinktionen. Ich schlage daher vor, auch die basischen Anilinfarben (Safranin, Gentiana, Toluidinblau etc.) möglichst dem progressiven Verfahren entsprechend zu gebrauchen, d. h. sie sehr stark zu verdünnen und lange Zeit einwirken zu lassen.« (Heidenhain, 07).

229. Gefärbt werden entweder ganze Stücke vor dem Schneiden, **Stückfärbung,** oder Schnitte, **Schnittfärbung.** Die erstere gestattet rascheres Arbeiten, die letztere bietet z. B. folgende Vorteile: Es kann die Färbung unter dem Mikroskop stets kontrolliert werden; man kann sich vieler Farben bedienen, welche zur Stückfärbung nicht angewendet werden können. Vor allem gehört hierher die Mehrzahl der Mehrfachfärbungen. Man kann unter Umständen auch beide Färbungsarten verbinden und dasselbe Objekt zuerst im Stück und dann im Schnitt färben.

230. Es empfiehlt sich, bei **Einübung der Färbetechnik** mit Hämatoxylin zu beginnen (etwa mit Hämalaun, siehe § 249), und zwar zunächst mit dem Färben nicht aufgeklebter Schnitte, erst in zweiter Linie mit dem historisch ältest angewandten Farbstoff, dem Karmin, zu färben, hierbei auch die Stückfärbung einzuüben und dann sich mit den verschiedenen Anilinfarben zu befassen.

231. Bei der **Färbung** verfährt man im allgemeinen folgendermaßen:

Nicht aufgeklebte Schnitte werden mit Spatel und Nadel in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 5 ccm Farbe (z. B. Hämalaun) enthält. Die Schnitte müssen hierbei wie bei den folgenden Manipulationen stets glatt auf dem Spatel liegen.

Ist die Farblösung nicht alkoholisch, sondern wässerig, so empfiehlt es sich, die Schnitte (welche in der Regel nach § 166 von Paraffin befreit sind) aus Alkohol nicht direkt in die Farbe (z. B. Hämalaun) überzuführen, sondern vorher in Wasser, oder, bei Hämalaun, in eine 1—2%ige Alaunlösung und sie darin einige Minuten zu belassen, da der im Schnitt enthaltene Alkohol mit der Farbe in unserem Fall einen Niederschlag geben könnte, welcher störend wirkt. Aufgeklebte Schnitte

können ohne fühlbaren Schaden von absolutem Alkohol in Wasser übertragen werden; bei zarten, nicht aufgeklebten Schnitten empfiehlt es sich hier stets, eine oder mehrere Mischungen einzuschalten, z. B. 50% und 70% oder 40, 60, 80% Alkohol, um die die Gewebe lädierenden starken Mischungsströme zu vermeiden.

Ist die Zeit vorbei, welche die Schnitte in der Farbe zu bleiben haben und welche im folgenden jedesmal angegeben ist, so werden die Schnitte aus wässerigen Farben (z. B. Hämalaun) in eine größere Schale mit Wasser übertragen, wo sie wenigstens 10 Minuten ausgewaschen werden. (Beläßt man sie nach Hämalaunfärbung längere Zeit, etwa 1—2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere. In alkoholischen Farblösungen gefärbte Schnitte werden in Alkohol ausgewaschen; je nachdem man dazu 50, 70, 95 etc. %igen oder absoluten Alkohol verwendet, erzielt man unter Umständen verschiedene Resultate.)

232. In Wasser ausgewaschene Schnitte müssen hernach **wasserfrei** gemacht werden; sie werden zu diesem Zweck mit Spatel und Nadel, je etwa 3 Minuten, erst in ein Schälchen mit 70%igem, dann 96%igem und endlich absolutem Alkohol übertragen, von da in ein ebensolches mit Xylol.

Namentlich das Übertragen in absoluten Alkohol muß mit großer Vorsicht geschehen, damit die Schnitte sich nicht rollen oder falten. Solche Falten bleiben, da die Schnitte in absolutem Alkohol so hart werden, daß ein nachheriges Glattlegen mit Instrumenten meist eine Beschädigung des Schnittes herbeiführt. Leicht zu korrigieren ist eine solche Faltung dadurch, daß man den Schnitt, wenn er es verträgt, zurück ins Wasser bringt, wo die Faltung durch Bewegung des resistent gedachten Schnittes aufgehoben wird.

233. Aus dem Xylol werden die Schnitte auf den Objektträger gebracht; es kommt ein Tropfen Kanadabalsam und das Deckgläschen darauf (s. § 205).

Nelkenöl ist zu vermeiden oder wieder gut mit Xylol auszuwaschen, weil Erfahrungen vorliegen, daß dasselbe nachteilig auf das Halten der Farben einwirkt.

234. In derselben Weise wie Schnitte können auch auf Deckgläschen u. dgl. befestigte Präparate behandelt werden. Doch werden die Deckgläschen nicht mit dem Spatel, sondern besser mit einer passenden Pinzette aus einer Flüssigkeit in die andere übertragen.

235. Viel einfacher ist die Operation mit aufgeklebten Schnitten. Als Gefäße, in welche die aufgezählten Flüssigkeiten gebracht werden, dienen hier passende **Gläser,** welche durchweg für die Färbetechnik auf dem Objektträger angewandt werden. Dieselben sind z. B. **zylinderförmig,** ohne Hals, mit einem Glasdeckel verschließbar. Sie sind so hoch, daß ein hineingestellter, z. B. englischer Objektträger noch um etwa 5 mm über den oberen Rand hervorsieht. Dieselben dürfen nicht so weit sein, daß ein hineingestellter englischer Objektträger noch zu Boden fallen kann. Beabsichtigt man, eine größere Anzahl von Objektträgern gleichzeitig zu färben, so bedient man sich mit Vorteil z. B. der Porzellantröge oder **Glaströge mit Rillen** (siehe Figur 2). Solche sind z. B. bei Martin Wallach in Kassel zu haben. Auch andere zweckmäßige Vorrichtungen sind dafür angegeben worden und werden vielfach gebraucht.

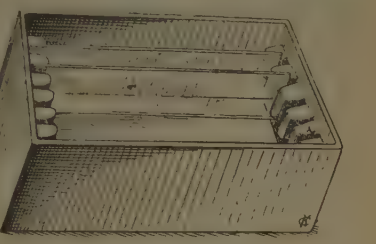


Fig. 2. Rillentrog..

236. Die Objektträger, auf welchen die Paraffinschnitte nach § 171 ff. aufgeklebt sind, kommen zunächst in ein Glas (resp. einen Rillentrog) mit Xylol, von da in ein Glas mit absolutem Alkohol, je etwa fünf Minuten, dann in die Farbe. Auch hier wird, wenn nötig, Wasser zwischen Alkohol und Farbe eingeschaltet.

Im übrigen ist die Weiterbehandlung im wesentlichen dieselbe wie für nicht aufgeklebte Schnitte, nur ist zu beachten, daß aufgeklebte Schnitte eher etwas länger in den Flüssigkeiten verbleiben müssen, da letztere nur von einer Seite einzuwirken vermögen.

Bei aufgeklebten Schnitten kann eventuell am Mikroskop bei schwacher Vergrößerung schon während des Auswaschens durch Besichtigung der herausgenommenen Objektträger kontrolliert werden, ob die Färbung eine genügende ist, was z. B. leicht am deutlichen Hervortreten der Kerne erkennbar ist. Endlich hat sich der Anfänger beim Einlegen davor zu hüten, die falsche Seite des Objektträgers mit Kanadabalsam und Deckgläschen zu versehen und die Schnitte abzuwischen.

Karminfärbung.

Die Karmine, die jetzt mit Vorliebe benützt werden, sind die folgenden, von Grenacher (79) angegebenen: Alaun- und Boraxkarmin, letzterer etwas modifiziert, und die P. Mayerschen: Karmalaun und Parakarmin. Reiner Karmin, nicht verunreinigt, löst sich restlos in Ammoniak.

237. Alaunkarmin. Anfertigung. 100 ccm einer 1- bis 5%igen Lösung des gewöhnlichen oder Ammoniakalauns werden mit $^1/_2$ bis 1 g Karmin vermengt und $^1/_4$ Stunde anhaltend gekocht und dann nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in diese Lösung und sind nach $^1/_2$ Stunde gefärbt. Ausgewaschen mit Wasser und weiter mit Alkohol etc. behandelt, zeigen sie eine fast ausschließliche Kernfärbung. Von sonstigen Gewebsteilen nehmen nur Muskeln etwas Farbe an. Sehr wichtig ist es, daß Alaunkarmin, auch längere Zeit angewandt, nicht diffus färbt, und daß man ihn infolgedessen mit dem besten Erfolge zur Stückfärbung gebrauchen kann. Die Lösung schimmelt leicht, es muß derselben etwas Karbolsäure zugesetzt werden.

238. Karmalaun nach P. Mayer (92). **Karminsäure** 1 g und Alaun 10 g löse man warm (oder auch bei gewöhnlicher Temperatur) in 200 ccm destilliertem Wasser, lasse absetzen und gieße ab oder filtriere; Thymolzusatz. Die Lösung ist haltbar. Stückfärbung. Auswaschen mit Wasser (will man eine ganz reine Kernfärbung haben, mit Alaunlösung, die wieder im Wasser fortzuschaffen ist, oder in hartnäckigen Fällen mit schwacher Säure).

Zur Färbung, namentlich größerer Stücke, besitzen wir folgende zwei Borax-Karminlösungen:

239. Nach Schridde und Fricke ist die folgende **Alaun-Karminlösung** die rationellste. Man löst 5 g Kalialaun in 100 g Wasser unter Erwärmen und fügt 1 g Karmin hinzu, welcher durch Kochen in Lösung gebracht wird. Nach dem Erkalten wird filtriert. Schnittfärbung 15 Minuten, Stückfärbung im Thermostaten (35°) 3 bis 4 Tage. Nach dem Färben Wasser, Alkohol etc.

240. Die **wässerige Borax-Karminlösung** wird folgendermaßen bereitet: 8 g Borax werden mit 2 g Karmin in einem Mörser verrieben und 130 ccm destilliertes Wasser hinzugesetzt. Nach 24 Stunden wird dekantiert und filtriert. Stücke, namentlich mit Sublimat fixierte, $^1/_2$—1 cm im

Durchmesser, verbleiben in dieser Lösung, in welcher sie wenig oder gar nicht angegriffen werden, 24 Stunden. Nun werden sie in eine $^1/_2$- bis 1%ige Salzsäure in 70%igem Spiritus übertragen und bleiben darin ebensolange; sie werden dann mit reinem 70%igem Spiritus 1 Tag behandelt, in 95%igen übertragen, durchtränkt und geschnitten. Sie zeigen eine exakte Chromatinfärbung, die mit Safranin wetteifern kann. Eine nachträgliche Färbung zur Doppelfärbung ist selbstverständlich zulässig.

241. Will man die zu färbenden Stücke nicht in Kontakt mit Wasser bringen, so bediene man sich der spirituösen, resp. alkoholischen Karminlösung. Viel gebraucht wird die **alkoholische Borax-Karminlösung:** 2—3 g Karmin, 4 g Borax, 93 ccm Wasser werden zur Lösung gebracht, 100 ccm 70%igen Alkohols zugesetzt, dann wird geschüttelt und filtriert. Färbung wie in § 240.

242. Für Stück- und Schnittfärbung hat P. Mayer (81) folgende **Karminlösung** empfohlen:

4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser suspendiert, es werden dann 30 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen hinzugefügt. Nun kommen 95 ccm Spiritus von 85 % hinzu, das Ganze wird aufgekocht und mit Ammoniak neutralisiert, nach dem Erkalten filtriert. Färbung wie § 240.

Wegen der Entzündlichkeit der Alkoholdämpfe ist das Kochen von Spiritus mit Vorsicht auszuüben.

243. Hier genannte verschiedene **Karminfarben** können von Grübler in Leipzig **in Pulverform** bezogen und dann nach beigegebenen Angaben gelöst werden. Z. B. 10 g Boraxkarmin in Pulverform werden unter Erwärmen in 150 ccm dest. Wassers gelöst und nach dem Erkalten 150 ccm 96%igen Alkohols hinzugefügt. Nach 24 Stunden wird filtriert. Karmalaunpulver wird im Verhältnis von 1 g zu 20—25 ccm Wasser gelöst.

244. Parakarmin nach Paul Mayer (92), ein Doppellack mit Kalk und Tonerde: Karminsäure 1 g, Chloraluminium $^1/_2$ g, Chlorkalzium 4 g, Spiritus 70% 100 ccm.

Es ist hiermit eine Farbe gegeben, die sehr einfach herzustellen ist und die, was von großem Wert, in 70%igem Spiritus gelöst ist; Schnitte und Stücke brauchen nach der Fixierung nicht mit Wasser in Berührung zu kommen. Aber auch die Anwendung der Farbe ist eine möglichst einfache; Parakarmin färbt rasch, und bei kleineren Stücken ist Überfärbung nicht zu befürchten; das Auswaschen ge-

schieht ebenfalls in 70%igem Spiritus; auch ein paar millimetergroße Stücke lassen sich in 24 Stunden durchfärben. Bei starker Verdünnung mit 70%igem Alkohol säuere man etwas an, um Niederschlag zu vermeiden.

Ist Überfärbung eingetreten, so wäscht man in ½%igem Chloraluminium, in 70%igem Spiritus, event. 2,5%igem Eisessig, in 70%igem Spiritus aus. Parakarmin ist hauptsächlich kernefärbend. Die Objekte dürfen nicht alkalisch reagieren oder viel Kalk enthalten, sonst entstehen Niederschläge.

245. Cochenilletinktur nach P. Mayer (81). Pulverisierte Cochenille läßt man mehrere Tage lang mit dem 8—10fachen an Alkohol von 70% in der Kälte in Berührung, schüttelt sie öfters um und filtriert die klare Tinktur ab. Die Objekte bringt man vorher in Alkohol von 70% und wäscht nachher die überflüssige Farbe mit ebenso starkem Alkohol wieder ganz sorgfältig aus (zum Verdünnen der Tinktur muß gleichfalls Alkohol von 70% genommen werden).

246. Cochenille-Alaun. Man mische 25 g pulverisierter Cochenille und nahezu ebenso viel gebrannten Alauns und gebe es in ungefähr 800 g Aqua dest.; das Ganze wird in einer Abdampfschale unter beständigem Umrühren eine halbe Stunde lang bis auf 600 g eingekocht; Thymolzusatz und nach dem Erkalten mehrmals filtrieren. Darin werden z. B. Embryonen, je nach der Größe, eine Stunde bis einen Tag und darüber gefärbt und so lange ausgewaschen, als noch eine Farbwolke herausgeht. Vor der Färbung müssen die Embryonen aus dem Alkohol so lange in Wasser kommen, bis sie untersinken und der Alkohol ganz entfernt ist (Czokor, C. Rabl, 94).

247. Stückfärbung mit Cochenille. Spuler verfährt in folgender Weise: 40 g gepulverter Cochenille (von Merk bezogen) wird in etwa 500 ccm dest. Wasser längere Zeit gekocht, nach dem Erkalten filtriert und auf 200 ccm eingedampft; zu diesem Cochenilledekokt setzt man 96%igen Spiritus zu, bis eine Fällung eintritt (ca. 300 ccm); nach dem Absetzen wird filtriert und auf 400 ccm eingedampft. Diese Lösung wird entweder unverdünnt, oder mit gleichem Volumen Wasser verdünnt, zur Stückfärbung angewendet; man färbt 6—48 Stunden im Thermostaten bei 40° C, kleine Stücke kurz, größere länger. Die Stücke werden dann mit ¾%iger Eisenalaunlösung 24 Stunden und

weitere paar Tage mit 1%iger Lösung desselben Salzes behandelt, mit dest. Wasser gewaschen und weiter, wie sonst, verfahren. Bei sehr großen Objekten ist das Vorbeizen mit $^1/_2$—$^3/_4$%iger Eisenalaunlösung zu empfehlen. Resultate: Basalkörner der Flimmerhaare, Schlußleisten, sonst viele Protoplasmastrukturen etc. erscheinen deutlich gefärbt.

Hämatoxylinfärbung.

248. Hämatoxylin (eingeführt in die mikroskopische Technik von Waldeyer) hat eine sehr mannigfache Anwendung gefunden, zur Färbung von Kernen und als Färbemittel für andere bestimmte Zwecke. Hämatoxylin ist schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Alkohol.

Es kann zur Schnittfärbung und zur Stückfärbung verwendet werden. (Stückfärbung: §§ 249, 256, 258, 263, 265.)

Voraus stellen wir Hämalaun, da hier für die Anfertigung der Farbe präzise Daten gegeben werden können.

249. Paul Mayer (91 und 92) empfiehlt eine Hämatein-Alaunlösung, **Hämalaun.** 1 g Hämatein wird in 50 ccm Alkohol von 90% unter Erwärmen gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1 l Wasser unter Thymolzusatz gegossen. Nach dem Erkalten wird event. filtriert. Hämatein ist unter dem Namen Hämateinum crystallisatum im Handel bekannt. Es wird in der Weise bereitet, daß man eine wässerige Hämatoxylinlösung (1 : 20) unter Erwärmen löst, mit 1 ccm Ätzammoniak versetzt und, vor Staub geschützt, abdunsten läßt. Die Vorzüge des Hämalauns sind große; die Farbe kann sofort nach dem Bereiten benützt werden (das Reifen fällt weg), färbt rasch, überfärbt (namentlich mit Wasser verdünnt), nicht, dringt tief ein, ist also auch mit Vorteil für Stückfärbung anzuwenden. Nach der Färbung wird mit destilliertem Wasser gewaschen.

250. Hämatoxylinlösung I A nach von Apáthy (97) besteht aus gleichen Teilen von I. Glyzerin, II. 9 g Alaun, 3 ccm Eisessig und 0,1 g Salizylsäure auf 100 ccm Wasser. III. 1% Hämatoxylinlösung in 70%igem Alkohol, welche 6—8 Wochen lang gestanden (gereift) hat. Statt III nimmt P. Mayer (01) eine 1%ige Hämateinlösung. Hämatoxylin I A kann für Schnitt- und Stückfärbungen gebraucht werden. Nach dem Färben wird sorgfältigst mit destilliertem Wasser gewaschen und dann mit Spiritus behandelt.

251. Böhmersches Alaunhämatoxylin. Die Zubereitung ist nach Böhmer (65) und Frey (68) folgende: 0,35 Teile

Hämatoxylin werden in 10 Teilen absoluten Alkohols gelöst. Eine zweite Lösung besteht aus 0,1 Alaun (Alumen depuratum) und 30 destillierten Wassers.

Man bringt einige Tropfen der ersteren Lösung in letztere, bis sich ein schönes Violett entwickelt.

Ebenso kommt man zum Ziel auf folgende Weise: Man fertige sich an: eine 1 bis 2 %ige Alaunlösung in Wasser und eine gesättigte Hämatoxylinlösung in absolutem Alkohol, lasse letztere tropfenweise in erstere einfließen, bis eine violette Lösung entsteht. (Die zuzusetzenden Mengen sind, je nach dem Hämatoxylinpräparat, verschieden).

Diese Lösung wird beim Stehen dunkelblau; sie muß ausreifen, d. h. sie kann erst nach etwa 14tägigem Stehen (in offenem, vor Staub geschütztem Gefäß) verwendet und muß vor dem Gebrauch filtriert werden. Ist die für die Zubereitung verwandte alkoholische Hämatoxylinlösung alt (einige Monate) und rostbraun geworden, so ist das Ausreifen überflüssig (von Apáthy, 96).

Das Böhmersche Hämatoxylin wird zur Schnittfärbung, stark verdünnt auch zur Stückfärbung benützt. Es eignen sich hierfür am besten mit Salpetersäure, Pikrinsäure oder Sublimat fixierten Stücken entnommene Schnitte, weniger gut solche von Chromsäurepräparaten und solche, welche mit Osmiumsäure oder einem Osmiumsäure enthaltenden Gemisch behandelt wurden. Solche Schnitte können aufgeklebt oder nicht aufgeklebt gefärbt werden.

Mit Böhmerschem Hämatoxylin (gut ausgereifte Lösung) kann man entweder kurz, etwa 5 Minuten, färben und dann 10 Minuten in gewöhnlichem Wasser auswaschen (beläßt man die Schnitte längere Zeit, etwa 1—2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere), oder man färbt längere Zeit. Die Zeit muß dann ausprobiert werden, d. h. man muß bisweilen einen Schnitt herausfangen und in Wasser bringen, um zu sehen, ob er die richtige Farbe hat. Der Schnitt soll hellblau, nicht aber zu dunkel werden. Danach ist etwa 10 Minuten auszuwaschen und in der angegebenen Weise weiter zu behandeln. Es besteht bei diesem Verfahren die Möglichkeit, daß die Schnitte überfärbt werden; man verfahre dann nach § 253.

252. Den im Böhmerschen Hämatoxylin sich bildenden Niederschlag löse man in einer 1 %igen Alaunlösung und bekommt dann das sog. **neue Hämatoxylin** von Ranvier.

253. Mit Hämatoxylin (rasch geschieht dies z. B. bei dem Böhmerschen) ist es möglich, zu stark zu färben, zu überfärben. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte dunkelblau geworden. Hier hilft ein Auswaschen in Wasser,

auch wenn man es lange fortsetzt, nichts. Wohl aber können die Schnitte noch gut werden, wenn man solch aufgeklebte oder nicht aufgeklebte Schnitte in Wasser bringt, welchem etwas Säure zugesetzt ist, z. B. ein Tropfen Salzsäure auf 30 ccm Wasser. Hier bleiben die Schnitte, bis sie violett geworden sind (einen roten Schimmer bekommen). Dann kommen sie in Leitungswasser und werden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Ähnliche Dienste leisten auch andere Säuren, z. B. Schwefel- oder Oxalsäure. Für Oxalsäure hat man sich als Regel zu merken, daß hier nur mit destilliertem Wasser gearbeitet werden darf, um Kristallbildung zu vermeiden.

Eine entgegengesetzte Korrektion von z. B. durch zu langes Verweilen in der Säure rot gewordenen Schnitten kann man hervorrufen, indem man dieselben sehr lange in fließendes Leitungswasser bringt, oder rasch, indem man dem Wasser Spuren Salmiakgeist zusetzt, z. B. einen Tropfen auf 100 ccm. Die Schnitte werden dann wieder blau.

Was ist nun das **Resultat** einer gut gelungenen **Hämatoxylinfärbung?** Intensiv blau gefärbt ist, wie es scheint, nur das Basichromatin der Kerne, leicht bläulich in verschiedenen Abstufungen sind die verschiedenen Bestandteile der Zellen, ziemlich stark färbt sich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels usw. Die mit Böhmerschem Hämatoxylin gefärbten Präparate dunkeln oft nach.

254. Setzt man zum **Hämatoxylin Eisessig,** auf 10 g einen Tropfen, so tritt keine Überfärbung auf, sondern es werden nur die Kerne gefärbt (Filatoff).

255. Delafieldsches Hämatoxylin (siehe Prudden, 85). Um 600 ccm Flüssigkeit zu erlangen, löse man 4 g des kristallisierten Hämatoxylins in 25 ccm absoluten Alkohols. Diese Lösung gieße man in 400 ccm einer konzentrierten wässerigen Ammoniak-Alaunlösung. Nach 3 bis 4 Tagen, während welcher die Flüssigkeit offen in einer Flasche im Lichte stehen gelassen wird, filtriert man und gießt je 100 ccm Glyzerin und Methyl-Alkohol hinzu. Nach ein paar Tagen filtriere man abermals; es wird diese Flüssigkeit vor dem Gebrauche gewöhnlich mit Wasser verdünnt.

Färbung wie beim Böhmerschen Hämatoxylin; mit Wasser auszuwaschen. Schnitt- und Stückfärbung, in letzterem Falle verdünne man die Lösung stark und färbe längere Zeit.

256. Friedländersches (82) Hämatoxylin besteht aus: Hämatoxylin 2,0, Alkohol 100,0, Aqua dest. 100,0, Glyzerin 100,0, Kalialaun 2,0.

257. Eventuell können der Lösung 10 ccm Eisessig zugesetzt werden, um Überfärbung zu vermeiden (Ehrlichsches Hämatoxylin). Färbung: Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kurzer Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und verändert binnen wenigen Minuten seine Färbung in blau. Stückfärbung gleichfalls möglich.

258. Kleinenbergsches (76) Hämatoxylin (alkoholisch). 1. Man bereitet eine gesättigte Lösung von kristallisiertem Chlorkalzium in 70%igem Alkohol und fügt soviel Alaun, als sich lösen will, hinzu. 2. Eine gesättigte Lösung von Alaun in 70%igem Alkohol wird mit der ersteren im Verhältnis von 8 : 1 gemischt. 3. In diese Mischung bringt man tropfenweise Hämatoxylin in konzentrierter alkoholischer Lösung bis zur Blaufärbung des Ganzen. — Die Herstellung der Farbe erfordert infolge der unbestimmten Angaben persönliche Erfahrung. Die exakt färbende Flüssigkeit ist aber von Wert für Präparate, welche nicht mit wässerigen Flüssigkeiten in Berührung kommen dürfen.

259. Ein **Hämatoxylin,** bei welchem das lästige »**Reifen**« wegfällt, stellt Hansen (95) durch Oxydation der Hämatoxylin-Alaunlösung in der Wärme auf folgende Weise dar: a) 1 g Hämatoxylin wird in 10 g Alkohol abs. gelöst. b) 20 g Kalialaun werden in 200 g Aqua dest. warm gelöst, nach der Abkühlung wird filtriert. Am folgenden Tage Mischung von a) und b). 3 ccm von einer bei 15° C konzentrierten wässerigen Kaliumpermanganatlösung mißt man in eine Porzellanschale, gießt dann die Hämatoxylinalaunmischung zu und erwärmt unter stetem Umrühren bis zum Sieden Man läßt $^1/_2$ bis 1 Minute sieden, kühlt rasch ab und filtriert.

Wasserstoffhyperoxyd wird analog wie Kaliumhypermanganat für Reifen von Hämatoxylin angewandt (Unna).

P. Mayer (04) fügt Natriumjodat, um Hämatoxylin reif zu machen, hinzu. 0,2 Natriumjodat auf 1 l, mit 1 g Hämatoxylin und 50 g Alaun. Vgl. auch von Apáthy, § 251. Harris empfiehlt zu demselben Zwecke Quecksilberoxyd (mercurius praecipitates ruber).

260. Glychämalaun von P. Mayer (96), sehr lange haltbar. Hämatein 0,4 g, Alaun 5 g, Glyzerin 30 ccm, dest. Wasser 70 ccm. Man löse unter Zerreiben im Mörser das Hämatein in ein wenig Glyzerin und setze dann den Rest des Glyzerins nebst der (warm oder kalt bereiteten) Alaunlösung hinzu. Da leicht etwas Alaun ausfällt, so filtriere man die Lösung erst nach einigen Tagen.

261. Mallorys Hämatoxylin (91): Hämatoxylin 0,1, Wasser 80, Phosphorwolframsäure (Merk) einer 10%igen

wässerigen Lösung 1 ccm, Wasserstoffhyperoxyd 0,2. Man löse Hämatoxylin unter Erhitzen in etwas Wasser und setze nach einigem Abkühlen den Rest des Wassers und die Säure zu, dann Wasserstoffhyperoxyd. Es wird nach der Färbung rasch im Wasser gewaschen, dann 95% Alkohol Origanumöl, Xylol, Kanadabalsam. — Resultate: unter anderem Neurogliafasern blau, Nervenfasern rosa, Bindegewebe tiefrosarot.

Ein älteres Mallorysches Hämatoxylin (91) hat folgende Zusammensetzung: Hämatoxylin 1 g, Phosphormolybdän. säure 10%ig 1 ccm, Wasser 100, Chloralhydrat 5—10 g. Die Lösung muß reifen, event. mehr Hämatoxylin erhalten.

262. Vanadium-Hämatoxylin nach M. Heidenhain. Es werden 60 ccm einer 0,5%igen Lösung von Haematox. purissim. mit 30 ccm einer 0,25%igen Lösung von Ammonium vanadinicum zusammgegossen (bei Zimmertemperatur! cave: Erhitzen). Es entsteht eine schöne blaue Lösung, welche etwa am 3.—4. Tage brauchbar wird, aber schon nach 8—10 Tagen ihre guten Eigenschaften gänzlich eingebüßt hat. Man kann mit Vorteil nur feine Schnitte von in Sublimat fixierten Stücken tingieren und es sollen sich bei diesen starke Metachromasien zeigen.

Färbungsresultate: Starke Protoplasmafärbung in gewöhnlich sepiabraunem Tone (besonders schön: Schleimspeicheldrüsen), starke Färbung des Oxychromatins, schwache des Basichromatins, gewöhnlich Gelbfärbung der Nukleolen, oft Blaufärbung des Mucins und des Bindegewebes, Orangefärbung der roten Blutkörperchen, die Muskulatur meist schön goldbraun (Sarkolemm und Streifen Z wurden am Herzen bläulich erhalten).

Diese Färbung ist über Jahre hinaus konstant, dürfte aber nur von geübten Händen mit Vorteil benutzt werden. Heidenhain M. (03.)

263. Die **R. Heidenhainsche** (86) **Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Anfertigung der Farbe: Eine $^1/_3$%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin wird bereitet. Dieselbe kann frisch verwendet, aber im Licht nicht lange aufbewahrt werden.

Färbung: Die in Alkohol oder gesättigter Pikrinsäurelösung fixierten Objekte kommen in die Farbe für 24 Stunden, dann ebenfalls 24 Stunden in eine $^1/_2$%ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden

Farbwolken rasch gefärbt und muß daher mehrmals gewechselt werden. Dann werden die Stücke in Wasser ausgewaschen und kommen in Alkohol von steigender Konzentration. — Alk. abs., Xylol, Paraffindurchtränkung ist zulässig. Bedingung ist Anfertigung feinster Schnitte von 5 μ und weniger. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

Am besten eignen sich für diese Färbung Präparate, welche mit Alkohol oder Pikrinsäure (siehe § 28 resp. 77) fixiert wurden. Wenn man eine $^1/_2$%ige Hämatoxylinlösung und eine $^1/_2$ bis 1%ige Chromkaliumlösung nur wenige Stunden einwirken läßt, beide in großen Mengen und letztere öfters wechselt, so erhält man nach v. Apáthy eine reine aschgraue Färbung, die auch bei dickerem Schneiden noch deutliche Bilder gewährt.

264. Boehmer schrieb (65): »Vorher in Chromsäure oder doppeltchromsaurem Kali gelegen oder mit Kupfervitriol oder gewissen anderen Metallsalzlösungen behandelte Präparate werden auch durch einfach in Wasser (statt Alaunlösung) geträufelte alkoholische Hämatoxylinlösung blau. Die Färbung beruht, soweit Chrompräparate in Betracht kommen, hier wohl wesentlich auf den Prinzipien der seiner Zeit von Leukauf aufgegebenen Schreibtinte«. Leukaufs Tinte besteht aus 1000 g Blauholz lösung (1 Teil Blauholz auf 8 Wasser) und 1 Teil neutralem, chromsaurem Kali, welchem man etwas Quecksilberchlorid zusetzt. Das färbende Prinzip ist eine Verbindung von Hämatein ε und Chromoxyd. Wagner, Die chemische Technologie (63).

265. Für **Stückfärbung** von O. Schultze (04) wendet man **Chromhämatoxylin** in folgender Weise an: Fixiert werden die Objekte in Chromsäure oder Chromsäuresalze enthaltenden Flüssigkeiten, z. B. Chromosmiumessigsäure von Flemming, Kaliumbichromat 3%ig mit Osmiumsäure 2%ig, im Verhältnis von 3 zu 1 gemischt, usw. Die fixierten Stücke werden nicht gewässert, sondern gleich mit 50%igem Spiritus gut gewaschen und dann in 70%igen Spiritus, welcher mit Hämatoxylin gesättigt ist, auf 12 bis 24 Stunden übertragen. Dann wendet man, wie sonst, 80%igen Spiritus etc. bis zum Einschließen in Paraffin an. Enthalten die Stücke zu wenig Chrom, und fällt die Färbung nicht intensiv genug aus, so behandelt man die Stücke vor dem Hämatoxylinalkohol mit 1%iger Bichromatlösung in 50%igem Alkohol. Bergamottöl löst den Chromlack.

Resultate: Viele Protoplasmastrukturen, Kittleisten, Nerven- und Bindegewebsfibrillen erscheinen gefärbt.

266. Hämatoxylin-Eisenalaun nach M. Heidenhain (92, 94 und 96). Mit Wasser aufgeklebte Schnitte (höchstens 5 μ), besonders von Sublimatpräparaten, kommen in eine 1,5 bis 4 %ige (für Zentralkörper ausschließlich $2^1/_2$ %ige) wässerige Eisenalaunlösung (Synonym: Eisen-Ammon-Alaun, schwefelsaures Eisenoxydammoniak, Ferriammoniumsulfat kommt im Handel in violetten Kristallen vor), auf 2 bis 3 Stunden (für Zentralkörper nicht unter 3, besser 6 bis 8, ja bis 12 Stunden); nach kurzem Abspülen in destilliertem Wasser wird in der Hämatoxylinlösung (1 g Hämatoxylin auf 10 Alkohol und 90 Wasser, lasse man 4 Wochen reifen, verdünne zum Gebrauch mit dem gleichen Volumen Aqua dest.) 24 bis 36 Stunden gefärbt. (Die Güte der Zentralkörperfärbung wächst bei längerem Gebrauch ein und derselben Farbflüssigkeit.) Ausziehen der pechschwarz gewordenen Schnitte in derselben ($2^1/_2$ %igen) Eisenalaunlösung. Die Entfärbung kontrolliere man (für Zentralkörper mit Wasserimmersion) nach Abspülen des Objektträgers in einer großen Quantität Leitungswasser. Man unterbreche die Differenzierung je länger, desto häufiger. Zum Schluß 10 bis 15 Minuten in fließendem Wasser abspülen. Resultat: es färbt sich verschiedenes, einzeln oder kombiniert, der Chromosomen und der gröberen Teile der Chromatinstruktur, der Gallenkapillaren, des Schlußleistennetzes, bestimmter Teile der quergestreiften Muskulatur, der Zymogenkörnchen, Zentrosomen, Polradien, Mitochondrien usw. Man kann auch mit Bordeaux R., Fuchsin S. oder Anilinblau vor- oder nachfärben. Bordeaux R. in wässeriger dünner Lösung für Vorfärben, Rubin S. für Nachfärben fünf Minuten; Ausziehen mit 50 %igem Alkohol. Die Resultate dieser Färbung richten sich nach Beizung und Ausziehen und müssen vorsichtig beurteilt werden. Ist aber die Färbung in irgend einer Richtung vollständig gelungen, so geben sie die schönsten und klarsten Bilder.

267. Gurwitsch beschleunigt die **Prozedur,** indem er aufgeklebte, entparaffinierte, mit Alkohol entwässerte und gründlich mit destilliertem Wasser gewaschene Schnitte mit 2,5 %iger Eisenbeize aus einer Pipette reichlich beschickt und auf offenem Wasserbade so lange erhitzt, bis sich Blasen bilden, resp. die Beize sich trübt. Nach kurzem Abspülen mit destilliertem Wasser wird dieselbe Prozedur mit der Hämatoxylinlösung wiederholt. Wird eine sehr intensive Färbung gewünscht, so dampft man die Hämatoxylinlösung, bis sie von den Rändern aus einzudicken

anfängt, oder schichtet eventuell die Farbe zum zweiten Male auf. Die Differenzierung wird bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen.

268. Strasburger (05) fixiert mit Flemmingscher Flüssigkeit, schneidet, klebt die Schnitte mit Wasser auf, und nachdem, wie gewöhnlich, Xylol und Alkohol angewandt wurde, behandelt er die Schnitte mit käuflichem Wasserstoffsuperoxyd bis die Schwarzfärbung durch Flemmingsche Flüssigkeit verschwunden ist (etwa 1 Stunde) unter Kontrolle mit dem Mikroskop. Weitere Behandlung nach M. Heidenhain § 266.

269. Nißlsche (94 b) **Hämatoxylinfärbung.** Die sehr feinen Schnitte kommen eine halbe Stunde lang in Tinctura ferri acetici Rademacheri, worauf sie oberflächlich mit Wasser abgespült werden, um sodann wiederum eine halbe Stunde lang in die Weigertsche Hämatoxylinlösung (Hämatoxylin 1, Alkohol 10, 100 Wasser) zu kommen. Nach oberflächlichem Abspülen in Wasser werden sie kurz zur Differenzierung in 1 Salzsäure auf 100 70%igen Alkohol verbracht, um dann 10 Minuten in Wasser zu kommen, worauf nach Verbringung des Schnittes in Alkohol und Öl sein Einschluß in Balsam erfolgt.

270. Die besonderen Zwecken dienenden Hämatoxylinfärbungen werden später erwähnt.

Anilinfarben.

271. Bei der Färbung kann im allgemeinen mit Vorteil in zweierlei Weise vorgegangen werden: Entweder beläßt man die Schnitte nur so lange in der Farbe, bis das zu Färbende genügend gefärbt ist, **progressive** Färbungsmethode, oder aber man überfärbt den Schnitt (bis sämtliche Elemente desselben gleichmäßig gefärbt erscheinen) und wäscht dann mit dazu geeigneter Flüssigkeit so lange aus, bis alle Teile des Schnittes den Farbstoff abgegeben haben, bis auf diejenigen, welche die Farbe am längsten festhalten, **regressive Färbungsmethode.** (Vgl. auch § 225 ff.)

Gute, zum Teil progressive, zum Teil regressive Kernfärbungen erhält man mit Safranin, Thionin, Gentianaviolett, Methylgrün, auch Bismarckbraun. Aber auch zur Färbung anderer Zellbestandteile werden die Anilinfarben verwendet, so Eosin, Orange G., Fuchsin S. usw. — Für letztere Zwecke werden sie jedoch seltener allein, sondern meist im Anschluß an eine Kernfärbung angewandt und

sollen daher erst in den folgenden Kapiteln: Doppel- und Mehrfachfärbung — abgehandelt werden.

Das Färbevermögen eines großen Teils der Anilinfarben ist, abgesehen von der Zeit, fast unabhängig von der Konzentration; man mache es sich zur Regel, bei der progressiven Färbung mit dünnen Lösungen zu färben. Für die regressive Färbung wird man dagegen in den meisten Fällen mit konzentrierteren arbeiten.

272. Ehrlich (91) klassifiziert die Anilinfarbstoffe von anderen Gesichtspunkten wie die Chemiker in saure, basische und neutrale. Er nennt **saure Farbstoffe** jene Verbindungen, bei denen, wie in pikrinsaurem Ammon, eine Säure das färbende Prinzip darstellt. Säurefuchsin, Orange, Nigrosin, Bordeaux, Kongorot, Benzoazurin, Eosin, Erythrosin, Lichtgrün SF., Indulin, Aurantia. Sie färben hauptsächlich das Protoplasma der Zellen und viele ihrer Produkte. Sie sind schwer löslich in Alkohol und leichter löslich in Wasser.

Die **basischen Farbstoffe** sind, wie das essigsaure Rosanilin, aus einer Farbbase und einer indifferenten Säure entstanden, gedacht. Dazu gehören: Methylenblau N., Safranin, Methylgrün, Thionin, Gentianaviolett, Fuchsin (Magenta), Bismarckbraun, Methylviolett etc.; sie sind chromatinfärbend, färben aber auch Granula, Schleime usw. Sie sind leicht in Alkohol und schwer in Wasser löslich.

Die **neutralen** schließlich denke man sich als Salze, welche, wie das pikrinsaure Rosanilin, durch Zusammentritt einer Farbbase und einer Farbsäure entstehen.

273. Wenn die Objekte mit saueren Farben sich färben, so werden sie acidophil genannt; mit basischen oder neutralen — basophil und neutrophil.

In seltenen Fällen ist die Fixation von Einfluß auf die Baso-, resp. Acidophilie der Elemente. (Corti und Ferrate.)

274. Metachromatisch färben sich die Elemente, wenn sie eine andere Farbe als die der Farblösung annehmen, z. B. Thionin (siehe unten) färbt Kerne blau, den Schleim aber rötlich; Kresylviolett R. extra färbt Kerne blau, Granula der Mastzellen und Schleim rot, Muskeln grünlich.

275. Die im folgenden wiedergegebenen Anilinfärbungen und die im Kapitel Doppel- und Mehrfachfärbung erwähnten reichen für die gewöhnlichen Zwecke der Schnitt- und

Stückfärbung aus. Teerfarben, welche speziellen Zwecken dienen (z. B. Methylenblau, Dahlia etc.) werden im speziellen Teil erwähnt.

Kernfärbung mit basischen Anilinfarben.

276. Safranin ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safraninlösung wird hergestellt nach Pfitzner (80): 1 Teil Safranin, 100 Teile Alkohol abs., 200 Teile Aqua dest.

Man löse zunächst Safranin in Alkohol, was 24 Stunden und länger dauert, und setze nach erfolgter Lösung Wasser zu.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann wird in Alkohol abs. ausgezogen; Alkohol abs., Xylol, Kanadabalsam. Zieht man Schnitte, welche mit Safranin stark gefärbt sind, mit reinem Alkohol oder mit schwach angesäuertem (1 ‰igem) Alkohol, wenn die Präparate in Osmiumsäure fixiert waren, aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt: **Chromatin** (Basichromatin Heidenhain). Podwissotzki gebraucht zum Ausziehen und Fixieren der Farbe pikrinsäurehaltigen absoluten Alkohol.

277. Liegen Präparate sehr lange in Alkohol, so färben sie sich schlecht oder garnicht in Safranin. Man kann ihre Färbbarkeit dadurch herstellen, daß man sie 5—10 Minuten mit verdünnter Flemmingscher Lösung beizt: 10 bis 15 Tropfen auf 5 ccm Wasser. (Ssobolew [00].)

278. Thionin, Toluidinblau färbt nach P. Mayer (98) progressiv und regressiv vorzüglich Chromatin; in letzterem Fall nach längerer Färbung. Differenzierung (Stunden) mit Alkohol für Präparate aus Sublimat und Flemmingscher Lösung.

Thionin färbt Schleim, Knorpelgrundsubstanz, Mastzellengranula metachromatisch.

»Das von einigen beklagte Verschwinden der metachromatischen Färbung des **Thionins** in Alkohol, bzw. in Glyzerin, läßt sich ohne stärkere Einbuße der Farbnuance vermeiden, wenn man die aufgeklebten und von Paraffin befreiten Schnitte etwa 45 Minuten in **Eisenalaun** beizt. Nach der Beizung und Wasserspülung 10—20 Minuten langes Färben in einer dünnen oder mäßig konzentrierten Lösung von Thionin, Differenzierung mit 50 %igem Alkohol

bis keine blauen Wolken mehr abgehen. Wenn sich die Schnitte ablösen sollten, so gebrauche man eine alkoholische Lösung von Eisenalaun, aber diese länger, etwa 40 Stunden und ebenso alkoholische Thioninlösung.« (Metzner.) Thionin kann in Schnitten mit 5%igem molybdänsaurem Ammoniak (5—10 Minuten) fixiert werden.

279. Methylgrün ist Kernfärbemittel. Zubereitung: 1 auf 100 Aqua dest. (+ 25 Alkohol abs.); es wird 10 Minuten gefärbt. Für 24stündige Färbung mit 20%igem Spiritus auf das Doppelte oder mehr zu verdünnen. Schnittfärbung, dann Waschen in Wasser, Ausziehen in 70%igem Spiritus kurze Zeit (1—2 Minuten), Alkohol abs. 1 Minute, Xylol, Kanadabalsam.

Die Hauptbedeutung des Methylgrüns im Vergleich zu Safranin liegt in seiner besseren Verwendbarkeit zu Mehrfachfärbungen mit roten Farbstoffen (z. B. Eosin, Fuchsin S., auch Orange).

Über die Verwendung des Methylgrüns als Kernfarbstoff für frische Gewebe siehe § 357.

280. Bismarckbraun nach Weigert (78). Anfertigung: 1 auf 100 Wasser wird aufgekocht und filtriert, dann wird ein Drittel des Volumens absoluter Alkohol zugesetzt. Färbung (Schnittfärbung): Die Färbezeit ist beliebig (etwa 2—24 Stunden, da Bismarckbraun nicht leicht überfärbt: dann Auswaschen in Wasser; weiter in absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam, auch aus Wasser in Glyzerin. — Kernfärbung; färbt auch intensiv die Knorpelgrundsubstanz. Eignet sich nach P. Mayer auch für Stückfärbung.

281. Fuchsin (**Magenta, Rubin,** basischer Farbstoff), Anwendung wie Safranin. Nach Sereni besitzt es metachromatische Eigenschaften, färbt z. B. Schleim violett.

282. Gentianaviolett, Anfertigung und Färbung wie Safranin, oder man löst viel Farbstoff in Anilinwasser und färbt nach Gram, d. h. färbt, spült mit Wasser ab, behandelt mit Jod-Jodkalium (§ 17) 2 Minuten, entfärbt in absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

283. Neutralrot ist basisch, ist von Ehrlich in die Technik eingeführt. Es hat demnach die Eigenschaft, alles Basische rot zu färben; Kerne, Nißlsche Granula, Schleim, den Lymphecytenleib, Knorpel. Das Acidophile färbt sich gelb und die Mastzellengranula orange. So färben sich

frische Gefrierschnitte, aber auch solche, welche vorher mit Alkohol oder Formal fixiert und in Paraffin oder Celloidin eingebettet und geschnitten waren. Man färbt mit wässerigen Lösungen etwa 15 Minuten.

284. Der Farbestoff ist ungiftig und man kann mit ihm noch lebende Wesen, resp. Gewebe, färben; z. B. Kaulquappen, welche man statt im Wasser in einer Neutralrotlösung 1 : 10000 hält, färben sich vital; Kerne und Schleim werden rot. In isotonischer konzentrierter Lösung kann man frische Präparate untersuchen. Auch bei Untersuchung gewöhnlicher Zupfpräparate nehme man statt Kochsalzlösung Neutralrot-Kochsalzlösung. Der Farbstoff läßt sich mit pikrinsaurem Ammoniak fixieren. Auch einige andere Farbstoffe, z. B. Methylenblau, Safranin, färben vital.

Mehrfachfärbung.

285. Wendet man bestimmte Farben in Mischung (simultan) oder nacheinander (succedan) auf denselben Schnitt an, so findet man die bemerkenswerte Tatsache, daß sich nicht etwa alle Gewebsteile des Schnitts in der Farbe der Mischung färben, sondern die einen Gewebsteile mit der einen, andere mit der anderen Farbe.

Man benutzt dieses elektive Vermögen der Gewebe zur Färbung und spricht bei Anwendung von zwei Farben von einer **Doppelfärbung,** bei mehreren von **Mehrfachfärbungen.**

Wenn sich ein Schnitt gegen zwei Farben ganz gleich verhält, so ist das keine Doppelfärbung in unserem Sinne. Mehrfachfärbungen geben nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen; solche haben aber auch, unter Umständen, großen Wert für histologische Untersuchung.

Beispiele von Mehrfachfärbungen nacheinander: Man kann eine kernfärbende Farbe verwenden und hernach eine andere Farbe, welche dann das Chromatin nicht färbt, wohl aber den übrigen Teil des Kerns und der Zelle. Solche sog. plasmafärbende, saure Farben sind z. B. Eosin und Orange.

Einen andern Zweck verfolgt eine Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben; sie ermöglichen, verschiedene Teile des Kerns oder verschiedene Kernarten (z. B. sog. saure Kerne) auseinanderzuhalten.

Man kann auch wieder mehrere nicht kernfärbende Farben mit einer kernfärbenden zweckmäßig zusammenstellen und erhält so drei- und mehrfache Färbungen.

Eine Reihe von Farben wird für ganz bestimmte Gewebe angewandt. Diese werden bisweilen auch mit einer kernfärbenden Farbe verbunden.

Im nachfolgenden ist eine Auswahl der wichtigeren Mehrfachfärbungen zusammengestellt, und zwar der Reihe nach: Anwendung verschiedener Farben zugleich mit Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün.

Als geeignete Farbe zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin empfiehlt sich besonders Eosin und Fuchsin S oder Rubin S; mit diesem ist die Doppelfärbung einzuüben (siehe § 296).

286. P. Mayers Pikromagnesiakarmin. Zu 1 Vol. Magnesiakarmin (Karmin 1 g, Magnesia usta 0,1 g mit 20 ccm dest. Wassers 5 Min. gekocht, auf 50 ccm verdünnt, dann filtriert und mit 3 Tropfen Formol versetzt) setzt man 9 Vol. einer Lösung von pikrinsaurer Magnesia (200 ccm einer 5%igen Lösung von Pikrinsäure in dest. Wasser mit 0,25 g kohlensaurer Magnesia bis zum Kochen erhitzen, absetzen lassen und filtrieren [feste Pikrinmagnesia ist von Grübler in Leipzig zu beziehen]) hinzu. Man kann auch zu 1 Vol. Magnesiakarmin 4 Vol. der erwähnten Lösung von pikrinsaurer Magnesia und 5 Vol. des schwachen Magnesiakarmins in 100 ccm Magnesiawasser (0,1 g Magnesia usta mit 100 ccm gewöhnl. Wasser eine Woche lang unter öfterem Schütteln in Kontakt stehen, dann absetzen lassen, dann abgießen) hinzusetzen. Auswaschen in dest., event. in Magnesiawasser. Färbt Schnitte rasch, kann auch zur Stückfärbung benützt werden.

287. Pikrokarmin nach van Wijhe. Eine alte ammoniakalische Lösung oder eine künstlich gereifte wird mit Alkohol versetzt, zu Pulver eingedampft und mit Ammoniumpikrat zu Pikrokarmin gemischt. — Die **künstliche Reife des Ammoniakkarmins** wird dadurch erzielt, daß man 10 g trockener Karmin (der käufliche enthält ca. 10% Wasser), 10 ccm Ammoniak und 20 ccm Wasserstoffsuperoxyd (oder ebensoviel einer 1%igen Kaliumpermanganatlösung) kurze Zeit kocht und mit dem vierfachen Volumen 96%igen Alkohols versetzt; nach einer Stunde wird filtriert. Das auf dem Filter befindliche Präzipitat wird mit 100 ccm 96%igem Alkohol gewaschen und schließlich im Thermostat bei 40—45° getrocknet. 0,5 g dieses Ammoniakkarminpulvers wird zu 100 ccm einer 1%igen Ammoniumpikratlösung (das Salz darf keine freie Pikrinsäure enthalten!) zugesetzt, 1/4 Stunde auf dem Wasserbad gekocht, nach dem Erkalten filtriert. Die Lösung ist neutral. Die gefärbten Schnitte werden kurze Zeit mit Wasser gewaschen, mit Alkohol bis zur gewünschten Diffe-

renzierung behandelt und durch Toluol in Kanadabalsam übergeführt.

288. Weigertscher (81) **Pikrokarmin.** 2 g Karmin werden mit 4 ccm Ammoniak übergossen und bleiben 24 Stunden, geschützt vor Verdunstung, stehen: es werden dann 200 g wässerige konzentrierte Pikrinsäure zugesetzt und wiederum 24 Stunden stehen gelassen. Es werden nun ganz kleine Mengen Essigsäure hinzugesetzt, die allmählich einen starken Niederschlag verursachen, der auch beim Umrühren nicht verschwindet. Nach 24 Stunden filtriert man. Geht der feine Niederschlag durch den Filter, so setze man Spuren von Ammoniak hinzu, wodurch der Niederschlag gelöst wird. Löst Eiweiß ab. Nachdem man mit diesem Pikrokarmin gefärbt hat, ist es mitunter ratsam, mit $^1/_2$—1 %iger Salzsäure in 70 %igem Alkohol, ähnlich wie nach Borax-Karmin, aber kürzere Zeit, zu differenzieren.

289. Pikrokarmin ist von Ranvier in die Technik eingeführt; sein Rezept ist sehr unbestimmt gehalten; der berühmte Forscher arbeitete fast ausschließlich mit diesem Farbstoff. Heute wird Pikrokarmin nur von wenigen gebraucht und die übrigen stimmen Weigert (95) bei: »Wenn man von der Kernfärbung absieht, die man mit einiger Sicherheit erreichen kann, so färbt das eine Pikrokarmin so, das andere anders, je nach dem Präparate, das man gerade besitzt, und das ist der Grund, warum dieser Farbstoff jetzt schon so ziemlich außer Gebrauch gesetzt ist, zumal man ja auch für die Kernfärbungen viel bessere andere Karmine hat.«

290. Karmin-Bleu de Lyon, von Baumgarten (92) empfohlen, ist Anilinblau, löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser. Röse gibt folgende Gebrauchsanweisung an: Man schicke eine Karminfärbung (Stück- oder Schnittfärbung, z. B. Alaunkarmin, Boraxkarmin) voraus. Bleu de Lyon wird in absolutem Alkohol gelöst und so stark mit absolutem Alkohol verdünnt, daß die Flüssigkeit kaum mehr blau erscheint. Darin werden die Schnitte 24 Stunden nachgefärbt. Die Färbung ist als Doppelfärbung für allgemeine Zwecke geeignet; ihre Verwendung für spezielle Zwecke siehe § 553.

Bleu de Lyon färbt viel rascher und intensiver, wenn man zu der Farbe Jodtinktur (1 Tropfen auf 30 ccm Farbe) zusetzt, oder die Schnitte vor der Färbung mit sehr verdünnter Jodtinkturlösung behandelt. Tonkoff.

291. Skrobansky (04) färbt mit Boraxkarmin vor und dann mit Bleu de Lyon-Pikrinsäure nach. Zu 100

Teilen Wasser werden 4 ccm einer in 95%igem Alkohol gesättigten Bleu de Lyon-Lösung und 10 ccm einer in Wasser gesättigten Pikrinsäurelösung zugesetzt. Man färbt 2—3 Minuten, führt die Schnitte durch Alkohol von 70, 80, 90% durch, dann durch absoluten Alkohol und Xylol, schließt in Kanadabalsam ein.

292. Paul Mayer (96) machte darauf aufmerksam, daß **Indigokarmin** in folgender einfacher Weise angewandt werden kann: Er setzt von einer Lösung von 0,1 g Indigokarmin in 50 ccm dest. Wasser oder 5%iger Alaunlösung dem Hämalaun oder dem Karmalaun nach Bedürfnis $^1/_{20}$ bis $^1/_5$ seines Volumens zu.

293. Schuberg kombiniert mit der **Karmindurchfärbung** der Präparate in Stücken eine **Nachfärbung** derselben mit einer $^1/_2$%igen Osmiumsäure 12—24 Stunden und dann eine ebensolange Behandlung der Stücke mit Holzessig. Letztere wird mit gleichem oder doppeltem Volumen Wasser verdünnt.

294. Von Apáthy (96) empfiehlt **Indigokarmin zur Nachfärbung** mit Safranin an in Hermannscher Flüssigkeit fixierten Präparaten.

295. Die **Pikrinsäure** als zweite Farbe ist außer ihrer Anwendung in der Form, wie es bei den Pikrokarminen geschieht, auch zu anderen Doppelfärbungen geeignet. Man hält sich eine gesättigte wässerige Lösung vorrätig (wie für die Fixation). Diese wird für die Färbung im Verhältnis von 1 : 3 mit Wasser verdünnt. Diese Lösung kann zur Nachfärbung von mit Karmin, Hämatoxylin oder Safranin (bei letzterem in alkoholischer Lösung) vorgefärbten Präparaten benutzt werden. Bei Schnitten genügt kurze Nachfärbung von 2—5 Minuten. Dann wird in Wasser ausgewaschen, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Beim Auswaschen behalte man im Auge, daß die Pikrinsäure in fließendem Wasser rasch und fast vollständig weggeht; man kann jedoch schon mit bloßem Auge den Moment erkennen, in welchem der Schnitt eben noch einen gelben Ton besitzt. — Weiter kann diese Nachfärbung mit Pikrinsäure auch im Stück geschehen; diese erfolgt, je nach der Größe des Objekts, in 2—24 Stunden. Auf Präparate, welche mit Boraxkarmin im Stück gefärbt sind, wirkt die Pikrinsäure als Säure (Karmin ausziehend); es können daher solche Stücke direkt aus dem Boraxkarmin in die Pikrinsäure übertragen werden (ohne vorher in sauren

Alkohol zu kommen). Wenn man Stücke zuerst in Pikrinsäure auf 24 Stunden legt und dann mit Karmin, z. B. Alaunkarmin, nachfärbt, erhält man für manche zpezielle Zwecke gute Färbungen. So können sowohl in Pikrinsäure selbst fixierte Stücke behandelt werden, als auch z. B. in Sublimat oder Alkohol fixierte. Für manche Zwecke wird Pikrinsäure auch in alkoholischer Lösung angewandt.

296. Hämalaun-Eosin oder **-Erythrosin.** Zeitlich getrennte Färbung. Für diese Färbung wird zunächst (nach § 231) ein Präparat in Hämalaun gut gefärbt und mit Wasser ausgewaschen. Dieses Präparat kommt in eine Eosinlösung. Es empfiehlt sich, eine 1%ige Eosinlösung in Wasser anzufertigen (Eosin gelblich). Für die meisten Objekte genügt es, diese Lösung um das 3 bis 5fache zu verdünnen. Darin bleiben die Schnitte 3 bis 5 Minuten. Bei stärkeren Lösungen genügt etwa 1 Minute; dann werden sie zunächst gut in Wasser ausgewaschen. Dasselbe muß so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr rot erscheint. Nun kommen die Schnitte für 2 bis 5 Minuten in 96%igen Alkohol, von da je eine Minute in absoluten Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Es ist sehr wesentlich, daß die Eosinfärbung nicht zu stark ist, da ein überfärbtes Präparat undeutlich wird.

Korrektion von mit Eosin überfärbten Präparaten ist möglich durch Ausziehen mit schwächerem Alkohol, 70% oder 80%; Zeit: Minuten, eventuell Stunden.

297. Eosin wurde als Tinktionsmittel von Fischer (75) vorgeschlagen; eosinophile Granula, Kernkörperchen und rote Blutkörperchen (Hämoglobin) halten den Farbstoff am längsten.

298. Rawitz (95b) empfiehlt, **zuerst** mit **Eosin** und **hernach** mit **Hämatoxylin** zu färben. Er färbt in sehr verdünnter Eosinlösung (1—3 Tropfen der konzentrierten Eosinlösung auf 25—50 ccm destilliertes Wasser) 24 Stunden. Dann wird flüchtig (bis 10 Minuten) in destilliertem Wasser abgewaschen, in einer verdünnten Hämalaun-, bzw. Hämatoxylinlösung, gefärbt und, wie üblich, weiter behandelt.

299. van Giesonsche Färbung (cit. nach v. Kahlden 95). 1. Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit oder in Alkohol. 2. Färben $^1/_2$ Stunde lang in Hämatoxylin. 3. Gründliches Auswaschen in Wasser. 4. Färben 3—5 Minuten lang in einer Mischung von Pikrinsäure, gesättigter, wässeriger

Lösung und Säurefuchsin, gesättigter, wässeriger Lösung so viel, daß die Mischung eine tiefrote (dunkelgranatrote) Farbe erhält. 5. Abspülen in Wasser, 1/2 Minute lang. 6. Spiritus, Alkohol, Hopfenöl, Kanadabalsam. Die Methode ist sehr bequem zu handhaben und gibt eine sehr schöne Doppelfärbung. Die Kerne werden braunrot, das Bindegewebe leuchtend rot. Gleichzeitige Färbung von Amyloid, Kolloid, Hyalin und Schleim. van Gieson hat ursprünglich als Vorfärbung speziell die Hämalaunlösung von Delafield empfohlen. Die gewöhnliche Alaunhämatoxylinlösung gibt auch sehr gute Resultate. Man überfärbe die Schnitte, weil die Pikrinsäure zum Teil eine entfärbende Wirkung ausübt.

300. Rubin-Ammoniumprikat. Nachfärbung nach v. Apáthy. Vorfärbung in Hämatoxylin 1 A, Abspülen mit dest. Wasser, ev. in Leitungswasser, wenn die Tinktion dunkler werden soll. Dann färben in: Konzentrierte Ammoniumpikratlösung in 1%iger Lösung von Natrium salicylicum 100 Teile, dazu 2 Teile einer 10%igen Rubinlösung. Die Färbung dauert wenige Minuten, darauf wird in dest. Wasser mit Zusatz von etwas Ammoniumpikrat abgespült, mit 90%igem Alkohol ganz flüchtig entwässert und durch Chloroformalkohol und reines Chloroform möglichst rasch in Chloroform-Kanadabalsam eingeschlossen.

301. Weigert (04) empfiehlt folgende **Hämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure-Färbung.** Für die Hämatoxylinfärbung bereitet man: a) Hämatoxylinalkohol, 1 g auf 100 ccm 96%igen Spiritus, b) Eisenchloridlösung mit Salzsäure, d. h. 4 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. IV, 1 ccm der offizinellen Salzsäure (sp. G. 1,124 mit 25% Chlorwasserstoff) und 95 ccm dest. Wasser. Zum Gebrauche gießt man a und b zu gleichen Raumteilen zusammen. Dieses neue Weigertsche Hämatoxylin überfärbt nicht (färbt mitunter auch elastische Fasern und die Scheiden der Knochenkörperchen und Primitivröhrchen). Nachdem die Schnitte gefärbt wurden, werden sie mit Wasser abgespült und kommen in ein Gemisch von 10 Teilen einer 1%igen Säurefuchsinlösung in Wasser auf kurze Zeit; sie werden dann mit Wasser kurz gewaschen, mit 90%igem Alkohol entwässert und durch Karbolxylol in Kanadabalsam eingeschlossen, ebensogut durch Azeton und dann Xylol, statt Karbolxylol. Dabei wird die Neuroglia nicht, wie es beim van Giesonschen Verfahren der Fall ist, gefärbt.

Das eben erwähnte neue Weigertsche Hämatoxylin wird auch bei der Markscheidenfärbung angewendet.

302. Hämatoxylin-Orange G. Es kann nach der Kernfärbung mit Hämatoxylin (z. B. nach Böhmer) mit Orange G. in ähnlicher Weise und mit ähnlichen Resultaten wie mit Eosin nachgefärbt werden; doch empfiehlt es sich hier, mit stärkeren Lösungen etwa 1%ig, ungefähr 24 Stunden oder auch kürzere Zeit zu färben, in 96%igem Alkohol zu extrahieren, absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

303. Hämatoxylin-Kongorot siehe weiter unten.

304. Hämatoxylin, Hämatoxylinlackfärbung. v. Apáthy (89) empfiehlt folgende Färbung (besonders für Nervensystem von Hirudineen), welche zu recht instruktiven Bildern führen kann: Kleine Objekte werden in ½%ige wässerige Hämatoxylinlösung auf ½ Stunde gelegt, kurz mit Wasser gewaschen, dann mit 1%iger Kalium bichromicum-Lösung in Wasser 2 Stunden lang behandelt, wieder gewaschen, geschnitten. Die Schnitte werden mit schwachem wässerigem Alaun-Hämatoxylin in üblicher Weise nachgefärbt (v. Apáthy rät zu Zelloidindurchtränkung).

305. Methylgrün-Eosin in Mischung.

1%ige wässerige Methylgrünlösung, davon 60 Teile.
1%ige wässerige Eosinlösung, davon 1 Teil.
Durch Alk. abs. auf 100 Teile zu ergänzen.
10 Minuten färben, in Wasser 5 Minuten auswaschen.
Alk. abs. 1 Minute, Xylol, Kanadabalsam.

Bei dieser und der folgenden Färbung ist Methylgrün Kernfärbemittel, die begleitende Farbe Eosin, resp. Fuchsin S., färbt andere Zellteile.

306. Methylgrün kann mit **Fuchsin S.** in Mischung verbunden werden, auf 1%ige wässerige Methylgrünlösung 60, 1%ige wässerige Fuchsin S.-Lösung 20; gefärbt wird wie im vorigen, aber nur kurz im Wasser ausgewaschen, da das Fuchsin S. im Wasser rasch weggeht; dann Alk. abs., Xylol, Kanadabalsam.

307. R. y Cajal schlägt in seinem Lehrbuch der Histologie eine dreifache Färbung vor. Zunächst kommen die Schnitte in gesättigte wässerige **Magentalösung** (Fuchsin, basisch), und nachdem sie mit Wasser gewaschen worden sind, bis die Farbe nicht mehr abgeht, kommen sie auf 5 Minuten in eine Mischung: gesättigte wässerige **Pikrinsäurelösung,** in welcher ¼% **Indigokarmin** gelöst worden ist. Es folgt eine Waschung in Wasser, zu welcher eine Spur Essigsäure zugesetzt wurde, dann rasche Entwässerung mit Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Acidophile Substanzen färben sich feuerrot, basophile in Farben von grau bis himmelblau.

308. Delamare färbt gleichzeitig Kerne violett, Protoplasma und Muskeln gelb, kollagene Bindegewebsfasern rot,

elastische Fasern schwarz. Es werden **Orzein** 1 g, Salzsäure 1 g und abs. Alkohol 50 g genommen, und man mischt diese Lösung mit gleichem Volumen einer zweiten Lösung folgender Zusammensetzung: saures **Hämatoxylin** (Ehrlich) 2 ccm, gesättigte wässerige Lösung von saurem **Fuchsin** (Grübler) 1 ccm, wassergesättigte Lösung von **Pikrinsäure** 200 ccm. (Die Mischung hält sich nicht länger wie eine Woche.) Die mit Alkohol oder Formol fixierten Präparate werden geschnitten, mit Wasser aufgeklebt und in der Delamareschen Mischung 30 Minuten bei 45° C gefärbt, mit etwas sauerem Wasser abgespült (4—5 Tropfen Salzsäure auf 100 ccm Wasser), mit gewöhnlichem Wasser gewaschen, mit Alkohol entwässert und durch Xylol in Kanadabalsam eingebettet.

309. Methylgrün-Fuchsin S-Orange — (Biondi-Ehrlich) von R. Heidenhain (88) empfohlen und M. Heidenhain (92) modifiziert. Ist ein neutrales Gemisch. Man spricht auch von Triazid.

Anfertigung: Es werden gesättigte wässerige Lösungen der drei Farben angefertigt. Dieselben müssen mehrere Tage stehen und öfters geschüttelt werden. Dann werden gemischt: 100 ccm Orange, 20 ccm Fuchsin S., 50 ccm Methylgrün.

Es empfiehlt sich weniger, die Farbmischung als Pulver direkt von Grübler in Leipzig zu beziehen. Färbung: Zur Färbung wird 1 Teil der gesättigten Lösung mit 60 bis 100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt, unter Wasserleitung gespült, kurz mit Alkohol ausgezogen und durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen. Geeignet für Sublimatpräparate. Bietet außer den bei Methylgrün-Eosin und Fuchsin S. erwähnten Resultaten noch orange Färbung der Blutkörperchen.

Die ursprüngliche Ehrlich-Biondische Lösung ist: von der gesättigten Lösung 10 ccm Orange, 1 ccm Fuchsin S., 3 ccm Methylgrün.

310. R. Krause (93) entnehmen wir: Die besten Färbungen in **Triazid** geben in Sublimat oder mit Sublimatgemischen fixierte Präparate. Zubereitung der Farbe: Rubin S. (löst sich 20 g in 100 ccm Wasser), Orange G. (8 g in 100 Wasser), Methylgrün (8 g in 100 Wasser). Von den gesättigten wässerigen Lösungen mischt man 4 ccm der ersten mit 7 ccm der zweiten, dann gebe man 8 ccm der dritten zu. Verfährt man so, dann entsteht kein Niederschlag, welcher sonst fast unvermeidlich ist. Zur

Färbung wird 1 ccm dieser Stammlösung auf 50 oder 100 ccm Wasser verdünnt. Zeit der Färbung 24 Stunden (mit Wasser, resp. dünnem Spiritus, angeklebte Schnitte). Vor der Färbung ist es manchmal vorteilhaft, die Schnitte 1—2 Stunden in 2‰ Essigsäure zu belassen. (M. Heidenhain [92] setzt der Farbe tropfenweise Essigsäure 1 : 500 unter stetem Umrühren so viel zu, bis der Farbenton in ein kräftiges Karminrot umschlägt.) — Ausziehen mit reinem oder etwas angesäuertem 90%igem Alkohol. Die Färbung mit Triazid muß fleißig eingeübt werden.

311. Dem Buche von L. Michaelis (02) entnehme ich: »Als Ursache dafür, daß die neutralen Farbstoffe im Überschuß der Säuren wieder in Lösung gehen, wird gewöhnlich die Annahme der Bildung eines dreisäurigen Farbsalzes der Farbbase mit der Farbsäure angenommen; daher der Name »**Triazid**«. Also würde z. B. Methylgrün, welches eine dreisäurige Farbbase enthält, von denen für gewöhnlich nur zwei abgesättigt sind, nach dieser Auffassung mit einem Überschuß von Säurefuchsin das dreisäurige Salz bilden.«

312. Morel und Doleris (02) geben zum **Triazid** 8% **Formol** und 1‰ **Eisessig.** Dadurch wird das Methylgrün in den Kernen ausgezeichnet fixiert.

313. Schridde und Fricke schlagen ein Verfahren vor, mit dem man **gleichzeitig fixieren und färben** kann. 4—5 mm große Stücke werden in Alaunkarmin (§ 237) 9 Teile und Formol 1 Teil gebracht. Hierauf werden die Stücke 12—24 Stunden, in fließendem Wasser gewaschen und dann in die Lösung überführt: Alkohol von 75° — 200 ccm und Ammoniaklösung 25% (spez. Gewicht 0,908) 1 Teil. In diesem Ammoniakalkohol bleiben die Stücke 12 Stunden. Handelt es sich um sehr blutreiche Organe, in denen starke Niederschläge zu befürchten sind, so nimmt man am besten eine Mischung von 1 Teil Ammoniaklösung auf 100 ccm 75%igen Alkohols, in welchem dann ein Verbleiben von 6 Stunden genügt. Aus dem Ammoniakalkohol kommen die Präparate sofort in 96%igen Alkohol, auf weitere 6—12 Stunden in abs. Alkohol usw. bis Paraffin. Die Kerne, die Zellgrenzen und das Protoplasma sind besser erhalten als bei Behandlung mit Formol und Alaunkarmin nacheinander. Hämoglobin wird mehr oder weniger ausgelaugt.

314. Tabelle der häufiger angewandten Mehrfachfärbungen.

Karmin.

Karmin-Hämatoxylin § 551
» -Pikrinsäure § 295
» -Indigokarmin § 292
» -Indulin § 766
» -Dahlia § 421
» -Bleu de Lyon § 290
Pikrokarmin § 288
Pikromagnesiakarmin § 286.

Hämatoxylin.

Hämatoxylin-(Hämalaun)-Eosin § 296
» » -Orange § 302
» » -Pikrinsäure § 295
» » -Kongorot § 750 und § 766
» » -Orzeïn § 463
» » -Muzikarmin § 759
» » -Fuchsin S.-Pikrinsäure § 299, 308
» (nach M. Heidenhain)-Rubin § 266.

Safranin.

Safranin-Gentianaviolett § 855
» -Gentianaviolett-Orange § 348, 350, 353
» -Pikrinsäure § 295
» Indigokarmin § 294.

Methylgrün.

Methylgrün-Eosin § 305.
» -Fuchsin S. § 306
» -Fuchsin S.-Orange § 309
Magenta-, Indigo-, Pikrinsäure § 307.

10. Kapitel. Das Mikroskop.

Es liegt nicht im Rahmen dieses Buches, eine ausführliche Schilderung des Mikroskops und seiner Nebenapparate zu geben. Wenn wir trotzdem einige Bemerkungen hierüber folgen lassen, so geschieht dies hauptsächlich deswegen, um die Gegenstände, mit welchen der Anfänger zu arbeiten hat, anzuführen und zu benennen, und hiermit eine Verständigung zwischen ihm und seinem Lehrer von vornherein anzubahnen. Genaueres über die Theorie des Mikroskopes findet man z. B. in den Werken von Ambronn, Czapski, Dippel, Neuhauß, Petri und A. Zimmermann.

315. Zur Untersuchung histologischer Objekte bedient man sich des Mikroskops, das mit Hilfe seiner optischen Apparate die Objekte vergrößert. Hierbei genügen »einfache« Mikroskope, die man auch Lupen nennt, nicht; man muß seine Zuflucht zu einem »zusammengesetzten« Mikroskope nehmen, das eine Kombination von mehreren Linsensystemen enthält. Je nach Bedarf kann man diese Systeme wechseln und dadurch die durch das Mikroskop gelieferten Vergrößerungen des Bildes ändern. Der übrige Teil des Instrumentes besteht aus einem fest zusammengefügten Apparate, den man im ganzen als **Stativ** bezeichnet: unten ruht das letztere auf einer **Fußplatte,** die fest auf dem Mikroskopiertisch stehen muß; an dem Fuße ist die **Säule** und an der letzteren sind die übrigen Teile des Mikroskopes befestigt, die, von unten nach oben gezählt, 1. aus einem beweglichen **Spiegel,** 2. aus einem **Objekttisch** und 3. aus dem **Tubus** bestehen. Die eine Seite der Spiegelplatte ist meist konkav und dient dazu, die Lichtstrahlen gegen eine sich im Objekttische befindliche Öffnung zu konzentrieren: ein an der anderen Seite der Spiegelplatte angebrachter Planspiegel wird seltener verwendet. Will man Objekte bei auffallendem Lichte beobachten, so stellt man den Spiegel derart, daß die reflektierten Strahlen nicht in die Öffnung des Objekttisches fallen.

316. Auf dem Objekttische, über der Öffnung, befindet sich das zu betrachtende Objekt. Ist dasselbe viel kleiner wie die Öffnung, so kann man die letztere durch **Blendvorrichtungen** verkleinern. Bei den neueren Instrumenten sind diese Blenden entweder durchlöcherte Scheiben, welche man in die Öffnung des Objekttisches einsetzt, oder es ist eine größere, mit mehreren Löchern von verschiedenen Kalibern versehene Scheibe, welche an der Unterfläche des Objekttisches derart befestigt ist, daß durch eine Drehung derselben ihre Öffnungen in die Mitte der Objekttischöffnung nacheinander gebracht und beliebig gewechselt werden können. Eine Blende anderer Konstruktion ist die sog. **Irisblende.** Sie bietet keine genauen Kreise, ist aber insofern sehr bequem, als ihre Öffnung durch übereinandergreifende gekrümmte Blechplatten vermittelst eines Handgriffes leicht weiter oder enger gemacht werden kann.

317. Der **Tubus** befindet sich in einer **Hülse,** welche an der Säule des Mikroskops befestigt ist. In der Hülse muß der Tubus bei einfacheren Mikroskopen mit der Hand

gesenkt, gehoben und gedreht werden; bei den komplizierten Instrumenten wird seine **Hebung** und **Senkung** durch Zahn und Trieb bewerkstelligt. Vermittelst einer **Mikrometerschraube,** die am oberen oder am unteren Ende der Säule angebracht ist, kann der den Tubus tragende Hebel etwas gesenkt und gehoben werden. Der Tubus selbst besitzt eine obere und untere Öffnung, welche zum Anschrauben oder zum Einlegen der optischen Apparate dienen.

318. In die obere Öffnung wird das **Okular** eingefügt, eine Röhre, deren Enden mit Linsen versehen sind: die obere, dem Auge zugekehrte, nennt man die Okularlinse, die untere die Kollektivlinse. Die untere Öffnung des Tubus dient zum Anschrauben des **Objektivsystems,** und dieses ist eine Kombination von mehreren Linsen, von welchen die dem Präparat zugekehrte kleinste Linse Frontlinse benannt wird.

319. Jedes größere Instrument besitzt mehrere Okulare und mehrere Objektivsysteme, welche beide verschiedene Vergrößerungen liefern und je nach Bedarf verschieden kombiniert werden können. Für die meisten Objekte reicht eine Vergrößerung bis zu 500 mal aus. Um diese Vergrößerung zu erreichen und dabei ein helles und deutliches Bild zu erhalten, genügen gewöhnliche Linsen nicht: je stärker das Bild vergrößert wird, um so dunkler erscheint dasselbe. Um diesem Übelstande abzuhelfen, hat man Beleuchtungsapparate **(Kondensoren, Abbesche Beleuchtungsapparate)** konstruiert, welche die Lichtstärke durch Konzentration beliebig abzustufen gestatten und für feine Untersuchung unentbehrlich sind.

320. Aber selbst bei Zuhilfenahme dieser Apparate reichen die »Trockensysteme« nicht aus; bei ihnen muß der Lichtstrahl verschiedene Medien von verschiedenem Brechungsvermögen passieren; die Strahlen gehen vom Objekte durch das Deckgläschen, dann durch die zwischen dem letzteren und dem Objektivsystem befindliche Luft; hierbei werden sie in verschiedener Weise abgelenkt, — Fehler, welche dadurch ausgeglichen werden könnten, daß man den Lichtstrahl nur durch ein einziges Medium gehen ließe. Diesem Übelstande konnte nur zum Teil dadurch abgeholfen werden, daß man zwischen Frontlinse des Objektivsystems und dem Deckglase einen Tropfen Flüssigkeit setzte, welche annähernd dasselbe optische Verhalten

wie das Glas hatte; die Linse wurde in diese Flüssigkeit eingetaucht. Da diese Erfindung sich bewährte, so ist in den letzten Jahren eine ganze Reihe von **Tauch- oder Immersionslinsen** angefertigt worden.

321. Wir haben also zwei Arten von Linsensystemen zu unterscheiden: 1. Trockenlinsen und 2. Tauch- oder Immersionslinsen. Die letzteren zerfallen wieder in zwei Gruppen: in Linsen mit **Wasserimmersion** und in solche mit **Oelimmersion.** Das in letzterem Falle verwendete Öl leistet vermöge seines hohen Brechungsvermögens bessere Dienste als das Wasser, so daß zur Zeit die Öllinsen überhaupt die besten Objektive sind, die wir besitzen — sie werden als homogene Immersionssysteme bezeichnet. In den letzten Jahren hat Karl Zeiß in Jena Öllinsen aus einer besonderen Glassorte angefertigt, welche es ermöglicht, die chromatische und sphärische Aberration der durch die Linsen gehenden Lichtstrahlen fast gänzlich zu beseitigen **(Apochromate).**

322. Die vom Spiegel reflektierten, durch das Objekt gehenden Lichtstrahlen werden durch das Objektivsystem in der Weise gebrochen, daß sie ungefähr in der Mitte der Tubuslänge das sog. Luftbild entwerfen, das, wie man sich ausdrückt, ein umgekehrtes ist: die rechte Seite des Gesichtsfeldes befindet sich im Luftbilde links, die obere unten; das Bild ist also um 180^0 gedreht. Durch das Okular wird das Luftbild abermals vergrößert, aber nicht mehr umgekehrt, so daß dem Auge das Gesichtsfeld sich tatsächlich als ein umgekehrtes darbietet. Zur Beseitigung der Seitenstrahlen, die nur diffuse Bilder geben, sind sowohl im Tubus wie im Okular an passenden Stellen Diaphragmen (Blenden) angebracht.

323. Das **Einstellen mit schwachem Objektiv** geschieht in folgender Weise:

Zuerst wird das Mikroskop auf einen feststehenden Tisch nahe einem Fenster, das den Ausblick auf einen möglichst großen Abschnitt des Himmels gewährt, gestellt. Das Mikroskop bleibt während der ganzen Untersuchung an derselben Stelle und wird nicht verschoben.

Jetzt schraubt man an das untere Ende des Tubus das schwache Objektiv an. Dabei hüte man sich, die Windungen durch unrichtiges, namentlich gewaltsames Eindrehen zu beschädigen. Dann setzt man in das obere Ende des Tubus ein schwaches Okular, z. B. Leitz Nr. 1,

ein und sieht hinein. Zunächst sieht man unter Umständen noch nichts.

Man verschiebt dann den Spiegel, indem man diejenige Spiegelstellung sucht, bei welcher derselbe das vom Fenster auf ihn fallende Licht, am besten das einer weißen Wolke (schlechter: der blaue Himmel), so reflektiert, daß die Strahlen in den Tubus, durch denselben und in das Auge des Beobachters fallen. Man sieht dann einen hellen Kreis, welcher **Gesichtsfeld** genannt wird; in dem Gesichtsfeld erscheint später das mikroskopische Bild.

Nun legt man das Präparat auf den Objekttisch und zwar so, daß die Stelle des Objekts, welche man besehen will, in der Mitte des Loches im Tisch sich befindet.

324. Dann wird der Tubus **mit der** ihn umfassenden **Hand** langsam stets in drehender Bewegung in der Hülse nach abwärts geschoben, bis die Frontlinse etwa noch $1^1/_2$ cm vom Objekt entfernt ist. Dann wird wieder hineingesehen und sehr langsam, stets drehend, nach abwärts geschoben, bis irgend etwas, wenn auch kein deutliches Bild im Gesichtsfeld erscheint. Wird etwas, wenn auch nur undeutlich, sichtbar, so hört man sofort auf zu senken. Es beginnt dann die feinere Einstellung mit der Mikrometerschraube.

Zur **Einstellung mit der Mikrometerschraube** genügt meist eine geringe, halbe bis höchstens ganze Umdrehung, um das vorher verschwommene Bild in seiner ganzen Deutlichkeit hervortreten zu lassen. Von nun an bleibt während des Sehens die eine Hand stets an der Mikrometerschraube, und zwar aus folgendem Grunde: Da man stets nur in einer Ebene gut sieht, der Schnitt aber eine bestimmte Dicke hat, so muß man bald etwas höher, bald etwas tiefer einstellen. Das geschieht dadurch, daß man während des Sehens die Mikrometerschraube von Zeit zu Zeit um ein geringes nach beiden Richtungen abwechselnd dreht.

Die **Mikrometerschraube** läuft bei längerem Gebrauch, wenn nach einer Seite mehr als nach der anderen gedreht wird, zu Ende und muß dann um einige Windungen zurückgedreht werden.

Für den Anfänger empfiehlt es sich, beim Mikroskopieren das eine Auge zu schließen. Später lernt man auch bei offenem anderen Auge sehen.

325. Will man ein **stärkeres Objektiv einstellen,** so wird in derselben Weise, wie oben, verfahren, nur ist

hier zu beachten, daß die Entfernung der Frontlinse vom Deckglas nur noch eine ganz geringe ist. Man schiebt daher den Tubus zunächst nach abwärts, bis die Frontlinse etwa noch 1 mm vom Deckglas entfernt ist, sieht dann ins Mikroskop und schiebt nun äußerst vorsichtig und langsam mit der Hand den Tubus immer in drehender Bewegung nach abwärts. Ist etwas sichtbar geworden, so folgt feine Einstellung mit der Mikrometerschraube. Das Einstellen mit starkem Objektiv erfordert größte Vorsicht, da es sich hier um Bruchteile eines Millimeters handelt. Hat man zu tief nach abwärts gedreht, so passiert es leicht, daß das Deckgläschen eingedrückt und so mit dem Objekt zerstört wird. Auch eine Beschädigung der Linse ist nicht ausgeschlossen.

Es bleibt auch für weitere Untersuchungen, wenn stärkere Systeme dabei angewandt werden sollen, Regel, stets mit dem schwachen Objektiv zu beginnen. Stärkere Okulare sind nur ausnahmsweise anzuwenden. Sie sind für die Regel unnötig.

326. Die Benützung der **Blende** ist auszuprobieren, man lernt sie meist erst bei feineren Untersuchungen in ihrem vollen Werte würdigen. Für den Anfang gelte es als Regel, daß für eine schwache Vergrößerung keine engen Blenden angewandt werden.

327. Eine bedeutende Rolle spielt die **Blende** bei Anwendung des **Abbeschen Beleuchtungsapparates.** Hier empfiehlt es sich stets, wenn man Strukturen sehen will, die Randstrahlen abzublenden. Will man dagegen nur Farben sehen, z. B. gefärbte Bakterien oder gefärbte Elemente überhaupt und dabei auf schwach oder gar nicht gefärbte verzichten, so lasse man das Licht voll einwirken.

11. Kapitel. **Rekonstruktionsmethoden**

von G. Born, Breslau.

328. Eine **körperliche Anschauung** der zelligen Elementarteile läßt sich meist leicht aus einem und demselben Schnitte durch sukzessives Einstellen der aufeinanderfolgenden optischen Durchschnittsebenen gewinnen; wo dies wegen der ungewöhnlichen Form oder Ausdehnung der Elementarteile Schwierigkeiten macht (Purkyněsche Zellen der Kleinhirnrinde), da hilft die Kombination von Bildern, die mehreren, verschieden orientierten Schnitten entnommen sind.

Schwieriger wird das Gewinnen körperlicher (dreidimensionaler) Anschauungen mitunter schon bei den sich zunächst aus Zellen aufbauenden Organulis; — wurden doch die Endteile vieler Drüsen nach den einzelnen Schnittbildern bis vor kurzem fälschlich als »azinös« (beerenförmig) bezeichnet, während es in Wirklichkeit alveoli, — längere, aber mannigfach hin- und hergebogene und ausgebauchte Schläuche sind. In vielen solchen Fällen führt die Benützung stark aufgehellter Dickschnitte und der bei der älteren Histologenschule vielbeliebten spezifischen Mazerationsmittel (Holzessig, Salzsäure, starke Alkalien u. dgl. mehr) zum Ziele; gewisse Objekte dieser Art hat man jedoch aus den Schnitten rekonstruieren müssen (körperliche Form der Schilddrüsenfollikel nach J. Streiff u. dgl.).

Es bleibt aber noch eine große Zahl von anatomischen und namentlich von embryologischen Objekten übrig, die einerseits zu klein und von zu komplizierter Form sind, als daß sich von ihnen durch Präparation und direkte Betrachtung mit der Lupe oder mit schwachen Mikroskopvergrößerungen eine ausreichende körperliche (plastische) Vorstellung erwerben ließe, die aber anderseits viel zu groß und wieder zu kompliziert sind, als daß aus einzelnen Schnitten oder aus Mazerationspräparaten ihre Form (namentlich auch die der Binnenräume) richtig erschlossen werden könnte. In diesen Fällen ist man gezwungen, eine Rekonstruktion solcher Gebilde aus den Bildern, die die aufeinanderfolgenden Schnitte einer Serie gewähren, auszuführen.

329. Die Rekonstruktion kann entweder eine **flächenhafte** (rein zeichnerische) sein, bei der die Tiefendimension nur durch Verkürzung und Schattierung in der Fläche einigermaßen dargestellt wird, oder sie ist eine **körperliche** — plastische. In beiden Fällen wird die Rekonstruktion wohl immer mit einer mehr oder weniger erheblichen Vergrößerung verbunden sein. Wie leicht verständlich, erscheint die zeichnerische Rekonstruktion häufig nur als ein provisorisches Hilfsmittel und muß auf leichtere Fälle beschränkt werden.

Alle Rekonstruktionsmethoden sind mühsam und zeitraubend; man vermeide sie also, wenn man mit anderen Hilfsmitteln, mit Präparation, Mazeration, Injektion, Korrosion usw. auskommt; anderseits kann nicht genug davor gewarnt werden, sich auf die vielfach beliebte »Rekonstruktion im Kopfe« (aus den Schnittbildern) bei irgend-

welchen schwierigen Objekten zu verlassen. Außerdem liefern namentlich die plastischen Rekonstruktionen vergrößerte und darum leichter demonstrable Präparate.

330. Die Voraussetzung jeder Rekonstruktion ist die Herstellung einer **lückenlosen Serie** von parallelen Schnitten durch das Objekt, — eine Forderung, die (mit Ausnahme einiger besonderer Konstruktionen) mit allen modernen Mikrotomen leicht zu erfüllen ist. Meist wird die Serie gleichmäßig dick sein; — doch kann es sich in besonderen Fällen empfehlen, zwischen dickere Schnitte in bestimmten Abständen einen halb so dünnen einzuschalten. Unter allen Umständen muß die Schnittdicke bestimmt und bekannt sein; man wähle je nach der Größe und Schneidbarkeit des Objekts Schnittdicken von **6, 8, 10, 12, 15, 20** μ. Die **Schnittrichtung** ist zwar theoretisch beliebig, in praxi aber ist meist eine zu der Hauptachse des Objekts parallele oder senkrechte Richtung zu bevorzugen.

Stückfärbung ist der Schnittfäbung durchaus vorzuziehen; ebenso Paraffin- oder Zelloidineinbettung. Unter allen Umständen müssen die Schnitte in richtiger Aufeinanderfolge ganz glatt — ohne irgendwelche Verschiebung (auch von ringsum isolierten Teilen!), ohne Verzerrung und Faltenbildung auf den Objektträger aufgelegt und aufgeklebt werden. Die hierfür gebräuchlichen und empfehlenswerten Verfahren siehe oben § 171 u. ff. und unten § 334.

Die Zuverlässigkeit und Schönheit jeder Rekonstruktion hängt durchaus von der Vollkommenheit der Schnittserie ab; man verschwende keine Mühe und Zeit mit Rekonstruktionsversuchen aus lückenhaften, ungleichen und schlecht aufgelegten Serien!

331. Methoden von **Rekonstruktionen in der Fläche:**

1. Die Herstellung eines Bildes, dessen Fläche senkrecht zur Schnittebene der Serie liegt (projektive Konstruktion nach His, das älteste und auch jetzt noch vielfach und mit Erfolg benützte Verfahren). — Beispielsweise Aufgabe: Es sei das Bild der Organe eines kleinen menschlichen Embryos im Medianschnitte nach einer gleichmäßigen Querschnittsserie von 20 μ Dicke in 60facher Vergrößerung herzustellen. — Lösung: Von dem in Zedernholzöl (oder dgl.) aufgehellten, im Stück gefärbten Embryo werden möglichst vielseitige Zeichnungen

bei bestimmter (5 oder 10facher) Vergrößerung abgenommen; für unser Beispiel ist eine genaue Profilzeichnung notwendig. Die Zeichnungen sind wo möglich, während der Embryo im flüssigen Paraffin liegt, zu wiederholen).

Jeder Schnitt der 20 μ dicken Querschnittsserie ist bei 50facher Vergrößerung zu zeichnen, um diesen Zeichnungen die nötigen Maße direkt entnehmen zu können. Arbeitet man a) ohne Richtebene (siehe § 333), so muß die Schnittrichtung genau bekannt sein, — oder dieselbe muß durch Vergleich der Lage bestimmter Punkte in den Schnitten und im Profilbilde aufgesucht und in dieses eingetragen werden. Arbeitet man b) mit Richtebene, so ist die genaue Fixierung der Schnittrichtung entbehrlich.

Ad a). Eine Pause der auf 50 mal gebrachten Profilzeichnung wird so auf »Millimeterpapier« geklebt, daß die Querlinien des Papiers der bekannten oder nachträglich bestimmten Schnittrichtung genau parallel laufen; nun numeriert man die Querlinien vom Kopfende an, entsprechend den Schnittnummern und trägt auf jeder Linie die Abstände, die die Organe auf der 50 fach vergrößerten Zeichnung des zugehörigen Schnittes in der Medianlinie vom Umriß der Profilzeichnung und voneinander zeigen, ab. Die Verbindung der entsprechenden Punkte gibt dann den Umriß der betreffenden Organe im Medianschnitte.

Ad b). Die Medianlinie jedes 50 mal vergrößerten Schnittbildes wird so weit verlängert, bis sie die mitgezeichnete Richtlinie schneidet. Die Medianschnittpunkte der Richtlinien werden in der Reihenfolge der Schnitte auf einer Senkrechten des Millimeterpapiers markiert und numeriert. Die Abstände, welche die Umrißlinien und die Organe in der Medianlinie auf den 50 mal vergrößerten Zeichnungen von diesen Punkten zeigen, werden an den zugehörigen Horizontalen des Millimeterpapiers abgetragen und die entsprechenden Punkte der aufeinanderfolgenden Linien miteinander verbunden. Bei diesem Verfahren entsteht der Umriß des ganzen Embryos erst nachträglich, zugleich mit den Umrissen der Organe bei der Konstruktion des Medianschnittes.

Es ist klar, daß sich nach dieser Methode auch laterale Teile, auf die Medianebene projiziert, darstellen lassen, so daß man z. B. nicht nur den Umriß, sondern auch annähernd das abschattierte Tiefenbild der median durchschnittenen Organe herstellen kann. In gleicher Weise

lassen sich auch Lateralansichten, Frontalschnitte, Frontalaufsichten usw. aus einer Querschnittsserie gewinnen.

Nach einer solchen zeichnerischen »Durcharbeitung« einer Serie in den verschiedensten Schnitten und Aufsichten ging His daran, das betreffende Objekt (oder bestimmte Organe desselben), unter stetiger Berücksichtigung der den Schnittbildern entnommenen Maße, »frei« zu modellieren — ein Verfahren, das trotz ausgezeichneter Resultate in den Händen seines Autors wegen der hohen Anforderungen die es bei mannigfachen subjektiven Fehlerquellen an das künstlerisch-technische Geschick des Arbeiters stellt, kaum Nachahmung gefunden hat.

2. Die „**graphische Isolierung**" **nach Kastschenko** (86, 87, 88; siehe in Zeitschr. f. wiss. Mikr. 87, p. 355 auch die Vorläufer.) Vorausgesetzt ist, daß (nach Kastsch.) das Objekt im Paraffin von ihm dicht anliegenden, sich winklig schneidenden und zur Schnittebene senkrechten „**Definierflächen**" umgeben ist, oder daß sich neben demselben eine »Richtfläche mit Richtleisten« (siehe § 333) befindet. — Die vergrößerten Schnittbilder der »graphisch zu isolierenden Organe« werden der Reihenfolge nach übereinander auf Karton gezeichnet, wobei aber dafür gesorgt wird, daß sich jedesmal die Durchschnittslinien der Definierflächen, resp. die gezackten Richtlinien, genau decken. So entsteht ein richtig orientiertes System um- und nebeneinander gelagerter Umrißlinien, nach denen sich die **Aufsicht** auf das Organ **senkrecht zur Schnittebene** leicht entsprechend schattiert herstellen läßt.

332. Für **plastische Rekonstruktionen** wird jetzt allgemein die **Plattenmodelliermethode** (Born) benutzt: — Ihr Prinzip ist folgendes:

Aus jedem Schnitt einer gleichmäßigen Serie werden die Teile, die man plastisch rekonstruieren will, in einer bestimmten Vergrößerung auf Platten aufgezeichnet, die ebensovielmal dicker als die Schnitte der Serie sind, wie die Flächenvergrößerung beträgt. Die interessierenden Teile werden dann aus den Platten herausgeschnitten und die Ausschnitte der Reihenfolge nach aufeinander geklebt. Geschieht dies in der richtigen Weise — ohne seitliche Verschiebungen —, so muß, nachdem die Stufen zwischen den Rändern der Platten geglättet sind, ein in allen drei Dimensionen richtig vergrößertes plastisches Abbild des durch die Schnittserie zerlegten Objekts herauskommen.

Nehmen wir zur Erläuterung ein ähnliches Beispiel wie oben: — Aus der gleichmäßig 20 μ dicken Querschnittserie durch einen kleinen menschlichen Embryo sei der Darmkanal 50 mal vergrößert plastisch zu rekonstruieren. — Man hat dazu die Durchschnittsfigur des Darmkanals aus jedem Schnitte in 50facher Vergrößerung auf 50×20 μ, d. h., 1 mm dicke Platten, aufzuzeichnen. Die richtig übereinander geklebten Ausschnitte der Durchschnittszeichnungen des Darmes aus diesen Platten ergeben die 50 mal vergrößerte, plastische Rekonstruktion des Organs.

In betreff der Einzelheiten des Verfahrens sei hier noch folgendes bemerkt — für Genaueres muß auf die angeführte Literatur verwiesen werden:

333. Richtfläche mit Richtleisten. Wenn man nicht nach einer fertigen Serie modellieren muß, versäume man nicht, an dem Paraffinblock dicht neben dem Objekt eine zur Schnittebene senkrechte Richtebene mit ebenso senkrechten Richtleisten anzubringen; auf den Schnitten resultiert daraus eine neben jedem Schnitte liegende, **gezackte Richtlinie** (über Zweck und Bedeutung derselben siehe unten § 337). Das neue, hier wiedergegebene Verfahren von Born und Peter (98, 99), das jetzt schon vielfach erprobt ist, schließt sich direkt an die gewöhnliche Art, nach der man Paraffinblöcke gießt, an. Über andere, ältere, in einzelnen Fällen sogar unentbehrliche Verfahren zur Herstellung von Richtlinien siehe die angeführte Literatur.

Man stellt sich eine **rechteckige Kammer** her, indem man zwei rechte Winkel (Neapler Rähmchen) auf einer plangeschliffenen, mit drei Füßchen versehenen Grundplatte so zusammenfügt, daß ihre unteren Ränder genau mit den (2 cm langen) Seiten eines auf der Grundplatte eingeritzten Quadrates zusammenfallen. Dieses quadratische Feld der Grundplatte, das den Boden der Kammer bildet, trägt in einem mittleren Streifen ein System von untereinander und zu zwei Seiten des Quadrates parallelen, dicht nebeneinander liegenden Ritzen. Am vorteilhaftesten ist es, Grundplatte und Winkel aus Glas herzustellen (in vorzüglicher Ausführung [aber nicht billig] von Zeiß-Jena zu beziehen); aus Metall kann dieselben leicht jeder Mechanikus anfertigen (event. Kleinert, Breslau, Breitestraße). In diese rechteckige Kammer, deren Grundplatte und Seitenwände vorher sehr sorgfältig mit Alkohol

und dann mit Chloroform geputzt wurden (ev. zuletzt noch mit einem minimalen Tröpfchen eines Gemisches von gleichviel konz. Glyz. und Alk. abs. abgerieben), und die im ganzen auf einige 50° C erwärmt war, wird auf etwa 70° C erhitztes Paraffin eingegossen, — das imbibierte Objekt eingebracht und (für eine Querschnittserie) mit seiner Längsachse senkrecht zu der dem Arbeiter zugewandten Seitenfläche (der Fußfläche) orientiert. Bei gläserner Grundplatte benutzt man dazu bei durchfallendem Lichte sichtbare, sich senkrecht überkreuzende, geschwärzte Linien, die auf der Unterseite des quadratischen Feldes eingraviert sind. Die Kammer wird außen mit Eiswasser umgeben und das Erstarren durch Zutropfen heißen Paraffins so geregelt, daß sich keine Seite des Blockes einzieht. Nach längerem Liegen in Eiswasser lösen sich Winkel und Grundplatte glatt ab; — man erhält einen rechteckigen (parallelepipedischen) Paraffinblock. Die Fußfläche desselben wird auf die mit definitiv festgestelltem Quermesser auf dem Paraffintische des Mikrotoms angeschnittene Fläche aufgestellt und mit überhitztem Paraffin an dieser festgeschmolzen; dann stehen die Längsachse des Objekts, die von der Grundplatte abgelöste, mit parallelen Leisten versehene Fläche des Blockes (die Richtfläche) sowie diese Leisten selbst (die Richtleisten) senkrecht zur Schnittebene. Die Leistenfläche erhält einen dünnen Anstrich von schwarzem Alkohollack; nur wenn nachgefärbt werden soll — was besser zu vermeiden ist —, benutzt man dazu mit Ruß geschwärztes, dünnes Kollodium. Nach vollständiger Trocknung des Lacküberzuges schneidet man um das Objekt und von der Leistenfläche alles, was nicht notwendig ist, vorsichtig ab; der Rest wird auf einen Augenblick in Paraffin von 75° C getaucht und nach dem Erkalten dieses Eintauchen so oft wiederholt, bis die Leistenfläche (Richtfläche mit Richtleisten) einen etwa einen Millimeter dicken Paraffinüberzug trägt.

Wenn nun das Quermesser beim Schneiden der Serie nicht mehr verrückt wird, wird das Objekt in Schnitte zerlegt, die senkrecht zur Längsachse desselben stehen und welche **gleichzeitig die geschwärzte Richtfläche mit den Richtleisten senkrecht treffen.** Dicht neben jedem Schnitte liegt dann eine feine, gezackte, schwarze »Richtlinie« (mit vom Schnitte abgewendeten Zacken!). — Würde man sämtliche Schnitte der Reihenfolge nach so auf-

einander legen können, daß alle gezackten Richtlinien sich wieder zu einer senkrechten Richtfläche mit senkrechten Richtleisten zusammenfügten, so würden auch alle Organdurchschnitte richtig, d. h. ohne seitliche Verschiebung, aufeinanderfallen. — In der hier angedeuteten Weise — nur daß nicht die Schnitte, sondern deren vergrößerte Bilder aufeinandergelegt werden — werden die Richtlinien bei Flächenrekonstruktionen (§ 331) sowie bei der Plattenmodelliermethode benutzt.

334. Die Schnittserie. Man lege die mit warmem Wasser (bis 40° C) gestreckten Schnitte reihenweise auf den Objektträger auf und überstreiche nach dem Lufttrockenwerden dünn, aber vollständig mittels eines weichen, gut abgestrichenen Pinsels mit Kollodium-Rizinusöl nach Strasser (10 Vol. Kollod., 10 Vol. Äther, 15 Vol. Olei Ricini). — Nun läßt man die Objektträger kurze Zeit liegen und taucht sie dann nur gerade so lange in Toluol (od. dgl.), bis das Paraffin gelöst ist, darauf deckt man sogleich mit einem an der Unterseite mit einem Tropfen Balsam armierten Deckglase ein. Bei längerem Verweilen in Toluol, Xylol od. dgl. leidet die feine Lacklinie leicht. Für die seltenen Fälle, in denen man nachfärben oder in Zelloidin einschließen will, muß auf die Literatur verwiesen werden.

335. Das Zeichnen. Man zeichne mit Benutzung des Oberhäuserschen Prismas, des Abbeschen Spiegels oder am besten unter Zuhilfenahme eines Projektionsapparates, da dieser selbst bei starken Vergrößerungen (100—150 mal), die immer zu bevorzugen sind, ein großes und ebenes Gesichtsfeld gewährt. Walzt man die Platten selbst aus, so zeichne man mit Kopierstiften (um Kopien abnehmen zu können) auf ein möglichst ungeleimtes Druckpapier; auf fertige Platten wird mit einem weichen Bleistift gezeichnet. Man mache es sich zur Regel, eher etwas zu viel als zu wenig zu zeichnen.

336. Die Platten wurden anfänglich aus Wachs gegossen. Jetzt werden meist gewalzte, planparallele Wachspapierplatten (nach Strasser-Borns Vorschriften) benutzt. Bei diesen ist eine Wachsschicht zwischen zwei Papierblättern eingeschlossen; das eine Blatt dient zur Aufnahme der Zeichnung (möglichst ungeleimtes Druckpapier, siehe den vorigen Paragraphen), das andere Blatt ist nur eine Decklage von Florpapier. Die Papierüberzüge verleihen

den Platten und damit dem ganzen Modell einen hohen Grad von Elastizität. Solche Wachspapierplatten liefert Dr. Grübler-Leipzig in den gebräuchlichsten Dicken. Da man aber von jeder Platte nur einen kleinen Ausschnitt braucht, kommt die Benutzung der käuflichen Platten ziemlich teuer zu stehen; es ist daher dringend anzuraten, die Wachspapierplatten nach den bei Born (88) gegebenen Vorschriften selbst herzustellen. Andere, mitunter benutzte Materialien, wie Pappen, Bleche u. dgl., sind weniger zu empfehlen.

337. Das Ausschneiden und das Aufeinanderpassen der Ausschnitte. Zum Ausschneiden werden am besten ganz kurze, schmale und spitze Messerchen (abgeschliffene Skalpelle) benutzt. Man beginne mit den Hohlräumen und lasse zwischen allen, gar nicht oder nur schmal zusammenhängenden Teilen provisorische Verbindungsstreifen (»Brücken«) stehen, die später — wenn die vorher getrennten Teile sich beim Aufeinanderpassen vereinigt haben — entfernt werden; bleiben Modellstücke dauernd isoliert, so werden die »Brücken« zuletzt durch Drahtstifte u. dgl. ersetzt. An der »Richtlinie« bleibt ein fingerbreiter Wachsstreifen stehen, aus dem die Richtzacken herausstehen; natürlich wird dieselbe auch mit den Schnitten durch »Brücken« verbunden.

Muß man ohne »Richtlinien« modellieren, so braucht man doch keine allzugroßen Fehler zu befürchten: »Die Profilkontur, durchgehende gestreckte Gebilde, wie Chorda, Blutgefäße usw., schützen meist vor falschen seitlichen Verschiebungen bei dem Aufeinanderpassen der Ausschnitte; außerdem besitzen die Schnitte durch ein einigermaßen kompliziertes Gebilde so viele Merkmale zweiter und dritter Ordnung, die immer nur eine bestimmte Art der Aufeinanderpassung möglich oder wahrscheinlich machen, daß ein Abirren nicht leicht vorkommen kann.«

Besser und sicherer aber ist es, eine »Richtlinie« neben jedem Schnitte zu haben. Man braucht dann nur die die Richtlinien tragenden Wachsstreifen so aufeinander zu passen, daß die Richtlinien mit ihren Zacken senkrecht übereinander fallen, damit alle Ausschnitte des Objekts richtig — ohne seitliche Verschiebungen — aufeinander zu liegen kommen (siehe den Schluß von § 333).

338. Die Vollendung des Modells. Man lege zuerst etwa 5 Ausschnitte richtig übereinander und befestige die-

selben provisorisch, indem man ihre breiteren Teile mit einem stark erhitzten, schmalen Modellierspatel durchsticht; dann glättet man die Stufen und verschmilzt die Ränder mit dem heißen, breiten Spatel. Darauf werden wieder 5—6 Ausschnitte aufgelegt usw. Man glaube nicht, wie dies manche tun, daß ein Modellstück mit ungeglätteten Stufen »naturwahrer« sei als ein ausgeglättetes.

Im Interesse des Einblicks in Hohlräume usf. wird man das Modell häufig nicht in einem zusammenhängenden Stücke fertigstellen, sondern dasselbe lieber nach provisorischer Vereinigung und oberflächlicher Glättung in bestimmten Ebenen wieder in getrennte Stücke zerlegen. In anderen Fällen schneidet man »Fenster« ein, setzt »Stütz- und Verbindungsdrähte« an und was dgl. mehr ist. Über die rechtzeitige Entfernung der Brücken siehe oben.

Zuletzt glättet man mit dem heißen Spatel, mit einem breiten, in Terpentin getauchten Pinsel, mit der Fingerbeere usf., so weit wie möglich; ein glattes Modell, an dem die zufälligen Unebenheiten entfernt sind, läßt die charakteristischen Formen viel besser erkennen als ein rauhes.

Ein Anstrich der verschiedenen Teile mit verschiedenen Temperafarben erhöht die Deutlichkeit sehr merklich.

Literatur zu Kapitel 11.

Born G. 83 und 88, Born G. und Peter K. 98, His W. 68 und 87, Kastschenko N. 86, 87 und 88, Peter K. 99, Strasser H. 86 und 87; soweit hier nicht aufgeführt, zitiert bei Strasser 86 und Born-Peter 98; — ein letzter polemischer Aufsatz von G. Alexander in Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XV, Peter 03, 06, Röthig 04.

339. Tabelle der Termini technici.[1])

Ein Organ wird **fixiert, konserviert,** es braucht für die Regel nicht **gehärtet** zu werden; **Härtung** ist nur ausnahmsweise not-

[1]) In den Lehrbüchern etc. werden die technischen Termini in verschiedenem Sinne gebraucht, z. B. muß der Ausdruck »einbetten« bei verschiedenen Autoren und oft bei ein und demselben Autor für alles Mögliche dienen. Da dies nun oft zu Mißverständnissen Anlaß gibt, so stellen wir hier einige der häufigeren Termini, deren wir uns bedienen und die wir zum allgemeinen Gebrauch vorschlagen, zusammen.

wendig, z. B. für das Schneiden mit dem Rasiermesser. Nach der Fixierung wird das Objekt eventuell **ausgewaschen** und dann mit Alkohol **nachbehandelt,** um wasserfrei gemacht zu werden (nicht um gehärtet zu werden). Dann wird es mit Paraffin etc. **durchtränkt.** Die **Durchtränkung** gliedert sich in verschiedene Abschnitte; das Objekt muß zuerst mit Xylol etc., dann mit reinem Paraffin durchtränkt werden. Dies geschieht, indem das Objekt aus einer dieser Flüssigkeiten in die andere übertragen wird.

Dann wird das Objekt in eine Form **eingebettet,** dabei muß es **orientiert** werden. Vor dem Schneiden am Mikrotom muß das Objekt in den Objekthalter **eingespannt** werden, nachdem es auf einem Zylinder, Holzblock etc. **befestigt, aufgeschmolzen** ist. Dann wird es eventuell mit dem Orientierungsapparat orientiert werden. Je nachdem das Objekt mit Paraffin oder Zelloidin durchtränkt war, erhält man **Paraffinschnitte, Zelloidinschnitte.** Bei der **Weiterbehandlung** des Schnittes kann derselbe zunächst **aufgeklebt** werden, dann folgt die **Paraffinbefreiung** des Schnittes mit Xylol etc., dann die **Schnittfärbung,** wenn nicht **Stückfärbung** vorausging. (Durchgefärbt muß sowohl der Schnitt wie das Stück werden.) Nach der Färbung wird **ausgewaschen,** eventuell **ausgezogen.** Die Färbung kann **Kernfärbung** sein, es kann dann mit weiteren Farben **nachgefärbt** werden (sog. Plasmafärbung). Man spricht dann von **Mehrfachfärbung.** Mehrfachfärbung mit nur zwei Farben nennt man **Doppelfärbung.** Endlich erfolgt der **Einschluß** in Kanadabalsam; der Einschluß kann auch so geschehen, daß man erst in Glyzerin **einlegt** und dann **umrandet.**

Spezieller Teil.

1. Kapitel. Zelle.

340. Die **Zelle** im ganzen ist von Gewebe zu Gewebe verschieden. Es ist aber möglich, in den verschiedensten Zellen durch die gleichen Methoden ähnliche Dinge zur Anschauung zu bringen: z. B. **Chromatin** des **Kernes,** gewisse Strukturverhältnisse des Protoplasmas usw.

341. Chromatin (der Hauptsache nach) ist sauer und färbt sich mit basischen Farbstoffen; man nennt diesen Teil des Chromatins **Basichromatin** im Gegensatz zu basisch reagierenden mit sauren Farbstoffen sich färbenden Kernstrukturen, **Oxychromatin.**

342. Um das Vorkommen der **Mitosen** zu studieren, fixiere man die Stücke mit Sublimat, § 63, Pikrinsäure, § 77, Salpetersäure, § 76, und wende entweder Stückfärbung mit Hämatoxylin, § 263, oder Karmin, §§ 237 ff., 244 oder Schnittfärbung mit Hämatoxylin, 249, 255, Karmin §§ 237, 244, Safranin, § 276, überhaupt basische Anilinfarbstoffe, Karmine und Hämatoxyline an. Als Untersuchungsobjekte wähle man wegen der bedeutenden Größe der Elemente von den Wirbeltieren Amphibien, namentlich Quappen von Fröschen, Kröten, Tritonen. Noch günstiger, aber nicht so leicht zu bekommen, sind Embryonen von Salamandra mac. und atra. Man studiere Mitosen auch an Pflanzenzellen, z. B. in den Spitzen junger Wurzeln der Zwiebel. (Einsetzen in ein Hyazinthenglas.) Behandlung wie tierische Gewebe.

343. Ob sich die Färbungen mit Karmin und Hämatoxylin mit denjenigen mit basischen Anilinfarbstoffen vollständig decken, ist eine noch nicht gelöste Frage. Karmin leistet wegen seiner relativ wenig intensiven Färbung bei Untersuchungen allerfeinster basichromatischer Bildungen weniger wie intensiv färbende dunkle Farben.

344. Hammer (91) sagt, daß die **Mitosen** beim Menschen **nach dem Tode** nicht ablaufen, sondern durch Chromatolyse zugrunde gehen, und daß sich die achromatische Spindel lange erhält.

345. Die Methoden, die für die genauere **Untersuchung** der **Kerne** am meisten geleistet haben, sind, auf lebensfrische Objekte angewandt: a) Fixierung mit Flemmingscher Lösung, § 53 mit nachfolgender Schnittfärbung mit Safranin, § 276 (Flemming); — b) die Rablsche Fixierung mit $^1/_{10}$—$^1/_8$ %iger Platinchloridlösung, Auswaschen mit Wasser, Übertragen in Alkohol von allmählich steigender Konzentration, Färben mit Delafieldschem Hämatoxylin, § 255, Untersuchen in Methylalkohol (auch Wasser); — c) die Hermannsche Fixierung mit modif. Flemmingscher Lösung (§ 59) einige Tage bis eine Woche lang, Waschen mit fließendem Wasser, Übertragen in Alk. abs. auf einen Tag; aus dem Alkohol kommen die Stücke in rohen Holzessig auf 12—24 Stunden, dann wird wieder 24 Stunden gewaschen und in Alkohol übertragen. Färbung der Schnitte mit Safranin, § 276, resp. mit Safranin-Gramscher Farbe, § 856, ist zulässig, nicht aber absolut notwendig, da man auch ohne Färbung vieles sieht. — Die Methoden b) und c) zeigen auch deutlich einige Protoplasmastrukturen und c) mitunter besonders deutlich das Centrosoma. — d) Sublimat-Eisessig, siehe § 71, andere Methoden weiter unten.

Viele von den im Kapitel »Embryologische Technik« für Fixierung und Färbung von Eiern gegebene Vorschriften erweisen sich auch für die Zelle im allgemeinen als nützlich.

346. Der Kern ist nicht nur basophil, sondern auch **cyanophil.** Wenn man den Kern in einem Gemisch von basischen Farben färbt, so wird von ihm die blaue Farbe bevorzugt. Auch aus einem Gemisch verschiedenfarbiger saurer Farben zieht er die blaue an. Aus einem Gemisch von sauren und basischen Farben wird stets die basische bevorzugt.

347. Besonders wertvoll für das Studium des Chromatins ist die progressive Färbung mit stark verdünntem Hämatoxylin, § 228.

348. Um das **Centrosoma,** Spindelfäden, **Lininfäden** und Polstrahlen zu färben, empfiehlt Flemming folgende Methode: Fixierung etc. nach § 53: Schnitte oder dünne Lamellen werden in Safranin, § 276, 2—3 Tage gefärbt;

kurzes Waschen in dest. Wasser, Übertragen in schwach mit HCl angesäuerten abs. Alkohol ($^1/_{1000}$), bis sich wenig Farbe mehr löst; kurzes Waschen mit dest. Wasser. Es werden die Schnitte nun 1—3 Stunden in eine sehr dunkle wässerige Gentianaviolettlösung übertragen, kurz mit dest. Wasser gewaschen und dann in eine konzentrierte wässerige Orangelösung (Orange G) gebracht, bis (wenige Minuten) die Schnitte anfangen, violett zu werden. Es wird kurz mit abs. Alkohol gewaschen, in Nelken- oder Bergamottöl übertragen und in Kanadabalsam eingeschlossen. Auf das Abpassen der Zeit, wo Zentralkörper und Spindeln gerade noch Farbe enthalten, kommt es an. Resultate: Chromatin purpurrot, achromatische Spindelfasern graubraun, grau oder auch violettgrau, Zentralkörper ebenso oder rötlich.

349. Reinke modifizierte diese Methode in ihrem zweiten Teil in folgender Weise: Zu einer konzentrierten wässerigen Lösung von Gentiana setzt man einige Tropfen einer ebensolchen Lösung von Orange G hinzu. Es bildet sich ein neutraler Farbstoff (neutrales Gentiana, Reinke), der die Lösung trübt. Man verdünnt mit Wasser, wodurch die Lösung wieder so gut wie klar wird.

In die verdünnte, unfiltrierte Lösung bringt man die Objekte auf 24 Stunden hinein, spült sie dann mit Wasser ab, taucht sie kurz in absoluten Alkohol ein und überträgt für kurze Zeit in Nelkenöl. Das Resultat ist dasselbe wie bei der Flemmingschen Dreifachbehandlung.

350. Bonney **modifiziert** ebenfalls die Flemmingsche **Dreifachfärbung.** Kleine Stücke müssen in Flemmingscher, Hermannscher Flüssigkeit oder auch in einem Gemisch von 1 Teil Eisessig und 2 Teilen abs. Alkohol fixiert werden; in letzterem Gemisch fixiert man 5—15 Minuten und überträgt die Stücke in abs. Alkohol. Es wird in Paraffin geschnitten; die entparaffinierten Schnitte kommen auf eine Stunde in eine gesättigte wässerige Safraninlösung, dann, nachdem sie mit Wasser abgespült wurden, auf $^1/_4$ Stunde in eine gesättigte wässerige Methylviolettlösung. Nachdem man den Objektträger um die Schnitte herum geputzt hat, tropft man auf die Schnitte eine Orange G.-Lösung in Azeton. (Zu 20 ccm Azeton wird tropfenweise eine gesättigte Lösung von Orange G. in Wasser hinzugesetzt, bis der flockige Niederschlag, der zuerst auftritt, sich wieder auflöst. Die Lösung wird filtriert). Man tropft diese Lösung auf die

Schnitte; sofort kommt eine Farbwolke heraus und macht sie unsichtbar; man saugt die Farbe mit Fließpapier weg und wiederholt diese Prozedur, bis die Farbwolken sehr dünn werden. Haben die Schnitte eine blaßrosa Farbe angenommen, so wird mit reinem Azeton gespült, mit Xylol flüchtig (ein paarmal wechseln) gewaschen und in Kanadabalsam eingeschlossen. Resultate: Alles Basichromatische ist tief violett, achromatische Spindeln blaßrosa, Protoplasma rosarot, interstitielle Granula blaßgelb. Läßt man Orange G. zu lange einwirken, so wird alles gelb, und zu kurz, dann wird das Präparat fleckig. Wirkt Safranin zu lange, so wird Chromatin rot; lange Einwirkung des Methylenblaus macht die Schnitte fleckig. Ist die Färbung mißraten, so bringe man die Schnitte sukzessive in Xylol, Azeton, Wasser und beginne von vorne.

351. An **Eiern von Ascaris** megalocephala, die nur 2 oder 4 Chromosomen besitzen, treten chromatische und achromatische Bestandteile der Zelle viel elementarer hervor. Schneidet man die Uterusschläuche heraus und bringt sie auf einer flachen Schale in eine feuchte Kammer bei 25 ° C, so entwickeln sich die Eier weiter, und man kann sich bald Furchungsstadien verschaffen. Die Schläuche dürfen dabei in keiner Weise mit Wasser direkt in Berührung kommen. (Van Beneden und Neyt).

352. Für die Darstellung der Centrosomen und anderer Zellstrukturen eignet sich besonders gut die Hämatoxylin-Eisenalaun-Methode M. Heidenhains, siehe § 266. Die Handhabung dieser Färbemethode ist, im Vergleich zu den vorigen und der nachfolgenden, einfach.

353. Als günstigstes Objekt, um die Centrosomen ungefärbt zu sehen, nennt Solger (89b) die **Pigmentzellen** (in der Kopfhaut der Frontal- und Ethmoidalregion des Hechtes). Fixierung: Flemmingsche Lösung oder Sublimat. Der Hecht wird vor der Tötung $^1/_2$ Stunde im Dunkel gehalten, damit die Pigmentkörnchen sich gleichmäßig in der Pigmentzelle verteilen.

354. Zur Darstellung der **Mitochondria** wendet ihr Entdecker C. Benda (01) folgendes Verfahren an:

A. Härtung.

1. Die lebensfrischen kleinsten Gewebstücke kommen für 8 Tage in ziemlich reichliche Flemmingsche Lösung.

2. Nach flüchtiger Wässerung in dest. Wasser (ca. 1 Stunde) auf 24 Stunden in Acetum pyrolignosum rectificat. + Sol. acid. chromic. (1 : 100) āā.

3. Auf 24 Stunden in Sol. kalii bichromic. 2 : 100,0.

4. Ca. 24 Stunden in mehrfach erneutes Wasser, dann Alkohol in steigender Konzentration, Paraffindurchtränkung.

NB. Die Stücke sind nach dieser Behandlung makroskopisch goldbraun, ohne intensivere Osmiumschwärzung. Es empfiehlt sich, die Durchtränkung mit Paraffin gleich der Härtung anzuschließen, da sich bei längerem Verweilen in Alkohol das Material wieder etwas ändert.

B. Färbung.

1. Die (von mir stets auf dem Deckgläschen) aufgeklebten, etwa 5 μ dicken Schnitte werden vom Paraffin befreit, mit Alkohol, Wasser behandelt und kommen auf 24 Stunden in ca. 4%ige Lösung von Eisenalaun.

2. Nach Abspülen in dest. Wasser kommen die Deckgläschen in eine bernsteingelbe wässerige Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (Kahlbaum), welche durch Verdünnung von 1 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung mit 80—100 ccm dest. Wassers hergestellt wird. Sie verbleiben hierin 24 Stunden.

NB. Die Schnitte müssen frei von der Farbe bespült sein; ich lege deshalb die Deckgläschen in eine flache Schale nebeneinander, mit der beklebten Seite nach oben.

3. Nach Abspülen in dest. Wasser kommt jedes Deckgläschen in ein Uhrschälchen mit meiner haltbaren Kristallviolettlösung (käuflich bei Grübler) und Wasser zu gleichen Teilen.

NB. Die Kristallviolettlösung ist eine 3%ige Lösung in 70%igem Alkohol, welche mit gleichem Volumen Anilinwasser verdünnt worden ist.

4. Die Lösung wird erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen, und noch 3—5 Minuten darin belassen, dann 3—5 Min. abkühlen.

5. Abtrocknen auf Fließpapier oder kurze Abspülung mit dest. Wasser, dann 1—2 Min. in 30%iger Essigsäure.

6. Dann wird längere Zeit, 5—10 Min., in fließendem Leitungswasser ausgewaschen, um jede Spur der Säure zu entfernen. Dabei wird der durch die Alizarinfärbung bewirkte Farbenton wieder rötlich.

7. Abtrocknen mit Fließpapier, Eintauchen in Alkohol absol., dann in Bergamottöl, Xylol, Balsam.

NB. Wenn man guten absoluten Alkohol verwendet, kann man die Deckgläschen (nach G. Fritsch) auch direkt auf Balsam auflegen.

Der schwierigste Moment ist die Abspülung in Alkohol. Wenn man zu lange hierin verweilt, werden die Fadenkörner ausgewaschen und man muß alsdann die Färbung von 3. an wiederholen. Ist man zu hastig gewesen, so daß anderes mitgefärbt blieb, so kann man nach Entfernung des Balsams durch Xylol noch ganz vorsichtig mit Kreosot nachdifferenzieren, wobei man am besten das Kreosot mit Xylol versetzt, um den Waschungsprozeß zu verlangsamen.

In den so gefärbten Präparaten sind die Kerne und das färbige Cytoplasma braunrot, ebenso das Archiplasma (Idiozoma); die Zentralkörperchen haben eine rötlich-violette Farbe. Einige Sekretgranula, z. B. die eosinophilen Leukozytengranula, sind blaßviolett. Die Fadenkörner und ihre Derivate sind von intensiv violetter Farbe und so scharf abgegrenzt, daß sie oft wie Bakterien erscheinen. Benda, 01. Änderungen, welche von Benda selbst herrühren, habe ich der Abhandlung von Meves und Duesberg (08) entnommen.

355. Mit der Osmiumsäuremethode von Kopsch, § 643, und der Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode von Sjövall, § 644, schwärzen sich die Chromidien der Geschlechtsorgane, wie die »Netze« der Ganglienzellen (M. Popoff).

356. Besonders deutlich färben sich die Chromidien mit R. Heidenhains Hämatoxylin-chromsaurem Kali; man nehme aber frisch bereitetes Hämatoxylin. Mit altem, gereiftem färben sich Protoplasmastrukturen und Fibrillen. Delafieldsches Hämatoxylin, kombiniert mit Eosin, v. Apáthys Hämatein Ia führen ebenfalls zum Ziele. Es muß sehr dünn (2—6 μ) geschnitten werden. Goldschmidt. Nach Fixierung mit Flemmingscher Lösung färben sich Mitochondrien mit Eisenhämatoxylin vorzüglich. Fr. Meves.

357. Für Darstellung sonstiger Protoplasmastrukturen heben wir technisch hervor:

Die Stücke werden mit Pikrinsäurelösungen oder schwach jodiertem Alkohol fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt (Vor-

behandlung mit essigsaurem Eisenoxyd, kurzes Auswaschen, $^1/_2$% wässerige Hämatoxylinlösung, siehe auch § 263) und sehr dünn $^1/_2$—1 μ geschnitten. Bei günstiger Beleuchtung, starken Vergrößerungen und in schwach lichtbrechenden Medien untersucht, zeigen sich gefärbte, wabige (alveoläre, schaumige) Strukturen des Protoplasmas: an tierischen Zellen, z. B. an Ovarialeiern der Knochenfische, Blutzellen des Frosches, Dünndarmepithel (Bütschli, 92).

Belgische Forscher (Van Beneden und Neyt) gebrauchen mit Vorliebe und Erfolg entweder als Färbemittel allein oder als Fixations- und Färbemittel **Methylgrün** — Eisessiglösung. Methylgrün wird in 2—3%iger **Essigsäure** gelöst (Carnoy), nach der Färbung ($^1/_2$ Stunde) wird mit 2 bis 3%iger Essigsäure ausgewaschen und diese durch Glyzerin substituiert.

358. Für **Darstellung** der **Zellengranula** bedient sich Altmann (94) folgender Methode: Fixierung in einer Mischung, welche durch Zusammengießen gleicher Volumina einer 5%igen Lösung von Kaliumbichromat und einer 2%igen Lösung der Überosmiumsäure erhalten wird. Die dem eben getöteten Tiere entnommenen Organstückchen kommen in diese Lösung, werden 24 Stunden darin belassen, dann in fließendem Wasser mehrere Stunden gewaschen und, nachdem sie einige Zeit nacheinander in Alkohol von 75%, 90%, 100% gelegen haben, mit Hilfe des Xylols (zwischen absolutem Alkohol und Xylol wird Xylol 3 und abs. Alk. 1 Teil eingeschaltet) mit Paraffin durchtränkt und 1—2 μ dick geschnitten.

Altmann klebt nach folgender Methode auf: Eine Lösung von 1 Guttapercha in 6 Chloroform (als Traumatizin in den Apotheken käuflich) wird für den Gebrauch mit dem 25fachen Volumen Chloroform verdünnt, die verdünnte Lösung über den Objektträger gegossen, abgetropft und der Objektträger nach dem Verdunsten des Chloroforms über der Gasflamme stark erhitzt. Auf solche vorrätig gehaltene Objektträger kommen die Paraffinschnitte und werden hier mit einer Lösung von Schießbaumwolle in Azeton und Alkohol angepinselt. (2 g Schießbaumwolle in 50 ccm Azeton gelöst und hiervon 5 ccm mit 20 ccm Alkohol verdünnt.) Nach dem Anpinseln werden die Schnitte mit Fließpapier stark an den Objektträger angedrückt und nach dem Trocknen angeschmolzen. Solche Schnitte können dann ohne Gefahr mit verschiedenen Lösungs- und Färbungsmitteln behandelt werden.

So aufgeklebte Schnitte werden mit Xylol von Paraffin befreit und in Alkohol übertragen. Dann wird eine kalt gesättigte und filtrierte Lösung von Anilin und Wasser hergestellt und in 100 ccm derselben 20 g Säurefuchsin gelöst. Von dieser Lösung bringt man eine Quantität auf den Objektträger und erwärmt denselben über freier Flamme, bis sich seine Unterfläche empfindlich heiß anfühlt und die Farb-

stofflösung dampft. Dann läßt man abkühlen und spült den Farbstoff mit einer Pikrinsäurelösung ab, welche durch Vermischen eines Volumens konzentrierter Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol mit 2 Volumina Wasser hergestellt ist. Dann gießt man eine neue Portion der Pikrinsäurelösung auf den Objektträger und erwärmt denselben. Dauer etwa 30—60 Sekunden (event. das Verfahren wiederholen). Da Xylol die Osmiumschwärzung extrahiert, so empfiehlt es sich, statt Xylol-Kanadabalsam entweder Panaffinum liquidum nach Altmann, oder abgedampften Kanadabalsam zu gebrauchen (siehe § 205). Die Granula sollen scharf gefärbt hervortreten, das übrige dagegen keinen oder nur einen graugelblichen Farbenton zeigen.

359. Schridde (05) hat die **Altmannsche Methode** wesentlich **modifiziert** und vereinfacht. Fixiert wird zunächst in Orthscher Flüssigkeit bei 35° 24 Stunden, darauf werden die Stücke (nicht über 1 cm) auf 1 bis 2 Tage in reine Müllersche Flüssigkeit gebracht (bei gewöhnlicher Temperatur), dann 12—24 Stunden in fließendem Wasser gewaschen. Man zerschneide nun das Objekt in 2 mm dicke Stückchen und lasse sie 6 Stunden in dest. Wasser liegen. Die kleinen Stückchen legt man auf 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäure unter Lichtabschluß, wäscht sie sorgfältig 12 Stunden lang in fließendem Wasser, entwässert sie allmählich in 50%igem bis absolutem Alkohol und bettet durch Chloroform in Paraffin ein. Schnitte von 1—2 μ Dicke werden mit Eiweißglyzerin aufgeklebt und entweder nach Altmann, wie oben, gefärbt oder in folgender Weise auf kaltem Wege. Aus 85%igem Alkohol kommen die Präparate auf 2—24 Stunden in Anilinwasser-Säurefuchsinlösung (zu 100 ccm einer kaltgesättigten und filtrierten Lösung von Anilin in dest. Wasser trägt man 20 g Säurefuchsin und filtriert) und werden darauf mit alkoholischer Lösung von Pikrinsäure differenziert (1 Teil gesättigter Lösung Pikrinsäure in abs. Alkohol und 7 Teile 20%igen Alkohols, Metzner), indem man etwas von dieser Lösung auf den Objektträger gießt, und wiegt den Objektträger mit dem Präparat auf und ab. Diese Prozedur wiederholt man, bis die Schnitte einen hellgelblichroten Ton bekommen. Mit dieser Färbung erzielt man folgendes: die Körnelung der Belegzellen erscheint violett, die eosinophile Granula schwarzrot, die neutrophile bräunlichrot; Mastzellengranula färben sich grauschwarz usw. Man kann auch mit anderen Flüssigkeiten fixierte Präparate, z. B. mit Formol, mit Orthscher Flüssigkeit oder Kalium-

bichromat und dann mit Osmiumsäure beizen, und bei der Weiterbehandlung, wie oben, die gleichen Resultate erzielen.

360. Eine Methode (Altmann, 94), welche die Reaktionsfähigkeit der Gewebe in ihrem natürlichen Zustande konserviert und daher einen durchaus universellen Charakter hat, und vermittelst der selbst die subtilsten Formen so vollkommen erhalten werden, wie auf keine andere Weise, sieht Altmann in folgendem Vorgehen: Man läßt frische Organstückchen **gefrieren** und **trocknet** dieselben in gefrorenem Zustande bei einer Temperatur von unter —20° C über Schwefelsäure im Vakuum vollkommen aus. Das Austrocknen dauert ein paar Tage, man erhält der Sicherheit wegen die Temperatur während dieser Zeit am besten nahe an —30° C, da bei —10° bis —15° die Objekte schrumpfen. »Austrocknen unterhalb der kritischen Temperatur. Maschinelle Einrichtungen verdienen für dieses Verfahren den Vorzug. Die im Volumen unveränderten Präparate werden mit geschmolzenem Paraffin im Vakuum direkt durchtränkt. Mit dieser Methode ist unseres Wissens nicht weiter gearbeitet worden.

361. Altmanns (92) Methode der Darstellung des intergranulären Netzwerkes in der Zelle; Mischung A: Molybdänsaures Ammoniak 2,5, Chromsäure 0,25, Wasser 100 (je nach den Objekten wird die Chromsäuremenge zwischen ¼—1% variiert). Mit molybdänsaurem Ammoniak allein erscheinen die Zellen homogen, mit Zusatz von 0,5—1% Chromsäure grobnetzig. — In der Mischung A läßt man die frisch eingelegten Stücke etwa 24 Stunden, dann übertrage man sie direkt in Alkohol und nach einigen Tagen in Paraffin. Färbung wie gewöhnlich, Hämatoxylin, Gentiana etc.

362. Nach Fischer (99, vgl. auch 93) liefern Niederschläge, welche sich aus sauren Eiweißlösungen durch das Altmannsche Gemisch (s. § 358) erhalten lassen, dieselben Färbungen wie die Altmannschen Granula. Wenn man, statt nach der Altmannschen Vorschrift zu verfahren, zur simultanen Doppelfärbung greift (Gemisch aus Pikrinsäure und Säurefuchsin), so erhält man eine Inversion der Granulafärbung, indem sich die großen und mittleren Granula rein pikringelb, alle kleineren und kleinsten intensiv rot färben. Hieraus folgert Fischer, daß die Altmannsche Färbung kein spezifisches Reagens auf Zellgranula ist.

363. An fixierten pigmentierten Zellen kann man auf Kosten der guten Konservierung das Pigment mit Wasserstoffhyperoxyd entfernen.

Mit diesem Mittel kann man nach Unna vielfaches erzielen. Es **bleicht** alle **Pigmente,** entfärbt **Chromsäure** und **Osmiumsäure**präparate, sowie auch mit Hämatoxylin

überfärbte; gegen Gold- und Silberniederschläge ist es unwirksam, reduziert aber frische Goldchloridpräparate augenblicklich und vollständig; schwache und starke Lösungen wirken, abgesehen vom Zeitunterschied, gleich.

Zu ähnlichen Resultaten ist Solger (83) gekommen. (Duval [78] hat im Jahre 1878 eine ähnliche Bleichmethode als eine alte, von Pouchet angegebene, erwähnt.)

364. Wasserstoffhyperoxyd bleicht sehr wenig energisch. P. Mayer macht in der letzten Zeit auf **Chlorwasser** und **Kaliumhypermanganat** 1 : 2000 als recht gute Bleichmittel aufmerksam; beim Bleichen mit letztgenannter Substanz bildet sich Manganoxyd im Gewebe, welches mit $^1/_3$ %iger Oxalsäure zu entfernen ist.

365. Man kann das Bleichen sehr resistenter Pigmente (und zu dunkel gewordener Osmiumsäurepräparate) mit **naszierendem Chlor** (P. Mayer, 81) bewerkstelligen. Die zu bleichenden Objekte kommen in ein mit Alkohol gefülltes Gefäß, auf dessen Boden Kristalle von Kalium chloricum deponiert werden. Es wird nun Salzsäure (bis 1 %) hinzugefügt und das Gefäß verschlosssen.

366. Man unterlasse nicht, Zellen ohne Zusatz oder mit Zusatz von isotonischen, indifferenten Lösungen zu beobachten; amöboide Bewegungen, Kriechen der Zellen, Flimmerbewegungen usw. Sog. Brownsche Molekularbewegungen, z. B. in Leukozyten und in Speichelkörperchen, werden gegenwärtig nicht als vitale, sondern als ein Teil der Absterbungserscheinungen aufgefaßt. Vgl. § 408.

Wertvolle technische Untersuchungen findet man in Heidenhain 07.

2. Kapitel. **Epithelien und Endothelien.**

367. Frisch werden die **Epithelien** durch leichtes Abschaben von der Oberfläche mit einem scharfen Messer gewonnen. Für die Entnahme der Pflasterepithelien ist die Mundhöhle zu empfehlen. Für die Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln. Viele in der Harnblase und Kloake des Frosches stets anzutreffende Parasiten haben eine flimmernde Oberfläche.

Die Untersuchung geschieht zunächst in der physiologischen Kochsalzlösung, und man würde gut daran tun,

sich über die Einwirkung der schwachen Säuren und Alkalien auf die Flimmerung zu orientieren (1 Kalilauge auf 1000 Wasser, Alkalien wirken erregend). In den Präparaten des Mundspeichels trifft man neben den Epithelien Speichelkörperchen an; bei Untersuchung derselben achte man auf molekuläre Bewegung.

368. Dann werden **Epithelien** untersucht, indem man dieselben **isoliert.** Dies geschieht durch Einlegen von Epithelfetzen, eventuell von Stücken mit Epithelien ausgekleideter Organe (z. B. Darm, Trachea) in Isolierungsflüssigkeiten. Nach verschiedener Zeit können die Zellen durch Schütteln oder Zupfen mit Nadeln isoliert werden. Untersucht kann in der Isolierungsflüssigkeit werden oder aber, indem man Glyzerin zusetzt, färbt (einen Tropfen Pikrokarmin am Rande des Deckgläschens zufließen lassen) und umrandet. Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört:

369. Der sog. $^1/_3$ **Alkohol** von Ranvier (28 Alk. absol. und 72 Wasser). Nicht allzu große Fetzen eines frischen Epithels werden in wenig Flüssigkeit 12—24 Stunden belassen, und es erfolgt die Isolation in der Regel schon durch bloßes Schütteln oder aber durch Zupfen mit Nadeln auf einem Objektträger. Die Zilien der Flimmerepithelien werden erhalten, und die nachträgliche Färbung auf dem Objektträger ist zulässig.

Als weitere Isolationsmittel für Epithelien werden angewendet:

370. Jodserum von M. Schultze (siehe § 15).

371. Osmiumsäure 1 auf 1000. Kleine Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden und mehr belassen, mit Wasser gewaschen und im Wasser selbst oder in Glyzerin zerzupft.

372. Sehr **schwache Chromsäurelösung** $^1/_{10}$ % ig. Einwirkung 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchens Kampfer.

373. Sehr **schwache** $^1/_2$ bis 1 ‰ige Kalium- und Ammon.-bichrom.-Lösung oder verdünnte **Müllersche Flüssigkeit.** Einwirkung mindestens 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchens Kampfer.

374. 1 bis 2 % Natron-Fluoridlösung, wenige Stunden. Für Epidermis, Linsenfasern, glatte Muskelzellen (Levi, 04).

375. Ewald (97) isoliert Schleimhautepithelien mit Ranviers Drittelalkohol 24 Stunden, fixiert mit $^1/_2$ %iger Osmiumsäure und wäscht unter Abhebern (s. § 376) einigemal aus. Für Flimmerzellen ist die Mazeration in Müllerscher Flüssigkeit besser als in Drittelalkohol. Man kann die durch Zupfen oder Schütteln isolierten Zellen färben, z. B. mit verdünnter Hämatoxylinlösung oder Pikrokarmin, unter Benutzung des Mayschen Hebers oder der Zentrifuge.

376. Bei Dr. **Mays' Heber,** welchen Ewald (97) empfiehlt, ist der in Flüssigkeit versenkte kürzere Heberschenkel am unteren Ende nochmals nach oben umgebogen und dann kurz über der Biegung abgeschnitten, so daß die freie Öffnung des Hebers nach oben gerichtet ist. Mit einem derartigen Heber kann die Flüssigkeit fast bis zum letzten Tropfen, ohne irgend etwas vom Bodensatz mitzunehmen, abgehebert werden.

377. Noch besser behandelt man vorher isolierte Zellen und Fasern mit einer **Zentrifuge.**

»Hat man das Gewebe in geeigneter Weise mazeriert, so wird es im Reagenzglas geschüttelt, bis die Elementarteile sich in gewünschter Weise isolieren. Bleiben dabei noch grobe Gewebeteile übrig, welche von vornherein beseitigt werden sollen, so läßt man kurz absetzen und dekantiert dann die überstehende zellenreiche Flüssigkeit. Nunmehr schleudert man letztere auf die Zentrifuge aus und erhält die Masse der Zellen als dicken Bodensatz; man gießt jetzt die Mazerationsflüssigkeit ab und schwemmt die Zellen in destilliertem Wasser auf, um sie zu waschen, schleudert abermals aus, dekantiert das Waschwasser und gibt über den Bodensatz die Farbflüssigkeit, schwemmt die Zellen in der Farbe auf, läßt färben, schleudert wiederum aus, gießt die Farbe ab, mischt zum zweitenmal mit Wasser, schleudert aus, härtet auf der Zentrifuge in steigendem Alkohol nach, indem man die Zellen immer wieder als Bodensatz auf dem Grund des Gefäßes sammelt, bringt sie auf diese Weise schließlich in absoluten Alkohol, schleudert aus und gießt Xylol auf, mischt die Masse sorgfältig mit dem Xylol, schleudert zum letztenmal aus und gießt reines Xylol über.« Heidenhain, 03 a.

378. Bei der Beobachtung der Epithelien oder Endothelien, frisch von der Fläche, sieht man die Zellgrenzen entweder gar nicht, oder sehr undeutlich. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sogenannten **Versilberungsmethode** (Ranvier [68 und 89]).

Dünne frische Membranen, Mesenterien, Perikardiumstücke, aufgeschnittene dünne Gefäße, aufgeblasene Lungenalveolen usw. werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit abgespült, um die anhaftenden Blutkörperchen etc. fortzuschwemmen. Sie werden alsdann in eine ca. $^1/_2$%ige wässerige Höllensteinlösung übertragen und solange darin belassen, bis die Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das der Fall, so werden die Stücke aus der Höllensteinlösung in viel destilliertes Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte solange stehen gelassen, bis die Stücke anfangen, sich zu bräunen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit destilliertem Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glyzerin und ähnlichem untersucht, oder aber allmählich in absoluten Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Aufspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. Xylol, Kanadabalsam. An solchen Stücken erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist, die Zellgrenzen, resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, der Zelleib und die Kerne derselben gar nicht oder wenig tingiert.

Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Boraxkarmin Hämalaun, ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

379. Achard und Aynaud führen die Schwärzung der Kittlinien auf das Vorhandensein von Kochsalz in den Kittsubstanzen zurück.

380. 1844 hat C. Krause (44) an der Epidermis mit Silbernitrat Zellgrenzen dargestellt und in einer Dissertation, die unter Coccius 1854 erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, daß nach der Ätzung des Hornhautepithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

381. Als **Lösungsmittel für Silbernitrat** kann statt des Wassers eine $^1/_2$%ige Osmiumsäure (O. und R. Hertwig) oder eine 2 bis 3%ige Salpetersäure genommen werden. Man lasse die Flüssigkeit etwa $^1/_4$ Stunde einwirken, wasche mit destilliertem Wasser längere Zeit, etwa $^1/_2$ Stunde, ab, übertrage in Spiritus von 70%, färbe event. nach (Hämatoxylin oder Karmin) und überführe in Kanadabalsam nach bekannten Regeln.

382. O. Schultze 07 setzt zu einer 2%igen Silberlösung 1‰ Osmiumsäure zu und läßt das Gemisch 30 Minuten einwirken, dann exponiert er in vollem Sonnenlicht

30′; nachdem mit dest. Wasser gewaschen wurde, reduziert man mit 1%iger Hydrochinonlösung oder 1%iger Pyrogalluslösung. Man kann auch erst eine 2%ige Osmiumsäure 24 Stunden und darnach Silbernitratlösung von 2% einwirken lassen.

383. Der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pinzetten etc. mit Silberlösungen ist auf das sorgfältigste zu vermeiden, und man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln etc. zusammenbaut. Zwei Igelstacheln würden ohne weiteres Nadeln ersetzen, zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Holz oder Horn, in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pinzette festgebunden, eine breitere dünne Lamelle aus hartem Holz werden in diesem Falle im allgemeinen zum Ziele führen.

384. Behandelt man die überlebenden Gewebe: Mesenterien, Sehnen, kleinere Nerven usw. mit Methylenblau-Kochsalzlösung (s. § 622), so kann man Zellgrenzen von Endothelien (resp. Sehnenzellen, Ranviersche Kreuze) nebenbei zur Darstellung bringen.

385. Das **Schlußleistennetz** stelle man nach § 266 dar.

386. Um **Interzellularbrücken** darzustellen, empfahl Kolossow (92): Feine Membranen, kleinste Gewebsstücke (auch vorher fixierte Stücke), kommen auf kurze Zeit (etwa 1/4 Stunde) in eine 1/2—1%ige Osmiumsäure oder in Alkohol 50 ccm, Wasser 50 ccm, Acid. nitr. conc. 2 ccm, Osmiumsäure 1—2 g und dann in eine 10%ige wässerige Tanninlösung oder den sog. Entwickler: Wasser 450, 85%iger Alkohol 100, Glyzerin 50, Tannin puriss. 30, Pyrogallussäure 30. (Zur Darstellung des Entwicklers werden 30 g Tannin in 100 Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst sind, und darauf die übrige Quantität Wasser, den Alkohol und das Glyzerin). Im Entwickler verbleiben die Stücke einige Minuten, werden dann 5 Minuten in einer schwachen Osmiumsäure abgespült, Waschen mit destilliertem Wasser, Alkohol etc. Vgl. auch § 930.

387. Nunmehr empfiehlt Kolossow (98) folgende Methode: Nachdem die Blutgefäße der zu untersuchenden Organe mit 0,6% Kochsalzlösung ausgespült worden sind, injiziert man in die Blutgefäße die Mischung: 1/2% Osmiumsäurelösung (in Wasser) 100 ccm, 1/2—1 ccm einer 30%igen Salpetersäure, 1 ccm Eisessig, Kalium nitricum 10—12 g.

Die in kleine Stücke zerschnittenen Organe kommen alsdann auf 16—24 Stunden in 1/2%ige Osmiumsäure und

auf ebensolange in eine 10%ige zu wechselnde (bis die Schwärzung schwindet) Tanninlösung. Wasser, Alkohol von 70%, 85%, 96%, abs.; Schneiden in Paraffin. Färbung nicht nötig.

388. Eine analoge Methode hat Woronin (98) für Schnittfärbung vorgeschlagen. Er färbt Schnitte in 1% **Osmiumsäure** — 10 Minuten oder länger —, behandelt sie ebensolange mit gesättigter **Tannin**lösung, überträgt sie auf etwa 20 Minuten in Osmiumsäure und wäscht dann längere Zeit mit abs. Alkohol.

389. Die Präparate, die in Pikrinsäuresublimat, Formalinalkohol, Formalin und Formalin-Müller möglichst frisch, hin und wieder lebenswarm, fixiert sind, färbt man nach der von Unna angegebenen Methode (nach Schridde 07).

Man stellt sich nachstehende zwei Lösungen her:

I. **Wasserblau** 1, Orcein 1, Eisessig 5, Glyzerin 20, Alkohol 96% 50, Aqua dest. 100. II. **Eosin** 1, Alkohol 80% 100.

Von Mischung I werden 10 ccm mit 3 ccm der zweiten Lösung gut gemischt und hiermit die Präparate 10 Minuten lang gefärbt. Ich habe durchweg 5 μ dicke, mit Eiweißglyzerin aufgeklebte Paraffinschnitte verwandt.

Die weitere Behandlung wird folgendermaßen gehandhabt:

1. Abspülen in Wasser. 2. Einstellen in eine 1%ige wässerige Lösung von Safranin O (Grübler) 10 Minuten. 3. Abspülen in destilliertem Wasser. 4. Einstellen in eine 0,5%ige wässerige Lösung von Kalium bichromicum 10 bis 30 Minuten. 5. Abspülen in destilliertem Wasser. 6. Alkohol, Toluol, Kanadabalsam.

Die Schnitte sollen violett aussehen. Es färben sich Zellengrenzen, Flimmerhaare mit ihren basalen Knötchensäumen, insbesondere auch eine recht gute Tinktion der Protoplasmafasern der bisher sog. Stachelzellen (Faserzellen).

390. In Organen mit gemischtem Epithel (Pflaster- und Flimmer- oder Zylinderepithel) kann man die **Verteilung des Epithels** von der Oberfläche aus mit der Lupe beurteilen; Zilliacus gibt folgende Methode an: Man schneidet die Organe, wie Kehlkopf, Uterus usw., auf, fixiert sie nach sorgfältigem Reinigen in physiologischer

Kochsalzlösung in natürlicher Lage 24 Stunden in: gesättigter Pikrinsäurelösung 1 Vol., gesättigter Sublimatlösung 1 Vol. und dest. Wasser 2 Vol.; aus diesem Gemisch genommen, werden die Stücke 1 Stunde in fließendem Wasser gewaschen und auf 2—3 Tage in eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung übertragen. Nach Abspülung des Präparates in gewöhnlichem Wasser wird es wenige Minuten (2′) in P. Mayerschem Hämalaun unter Kontrolle gefärbt. Zum Schluß spüle man, wenn nötig, mit 1%iger Sodalösung, dann wasche man usw. Das Plattenepithel erscheint gelb, das zylindrische grünschwarz.

3. Kapitel. **Blut und Lymphe.**

391. Die **roten Blutkörperchen** können ohne Zusatz untersucht werden. Man gewinnt einen Blutstropfen, wenn man z. B. sich selbst in die vorher sauber gewaschene, vom Fett befreite Fingerbeere einsticht; bei passendem Druck auf den Finger pflegt der Tropfen hervorzutreten und kann ein Teil davon auf den Objektträger gebracht, indem man denselben mit dem Objektträger berührt, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden.

Will man die Geldrollenanordnung der Blutkörperchen im Präparat erhalten, so muß man eine größere Quantität nehmen.

Hat man nicht genügend rasch operiert, so findet man bereits alle Blutkörperchen hochgradig verändert infolge der Verdunstung usw. Bessere Resultate bekommt man, wenn man über die Stichwunde zwei aneinandergedrückte Deckgläser hält und den Tropfen nun auspreßt. Er gerät in den kapillaren Raum und verbreitet sich dort in dünner Schicht. Statt zweier Deckgläser kann man natürlich auch Objektträger und Deckglas in einer passenden Weise kombinieren.

Ist das Präparat fertig, so sorge man dafür, daß keine weitere Luft zu dem untersuchten Tropfen hinzutrete, indem man das Deckgläschen z. B. mit Öl umrandet.

392. Albrecht nimmt für rote Blutkörperchen eine fettartige Membran an, gestützt auf Löslichkeitsverhältnisse derselben und den Umstand, daß sich beim Erwärmen des Blutes auf 45—50° von der Oberfläche der Blutkörperchen Kügelchen ablösen — offenbar flüssig gewordene, myelinartige (Schichtung) Substanz.

393. Hat man genügend unveränderte rote Blutscheiben studiert, so untersuche man zunächst einen Blutstropfen an einem nicht fixierten, ohne besondere Vorsichtsmaßregeln angefertigten Präparate. Die Blutkörperchen werden zackig, **»stechapfel-«**, **»morgensternförmig«**. Man setze anderen Präparaten Wasser zu; man sieht alsbald, daß die Blutkörperchen, wo sie vom Wasserstrom getroffen werden, sich zunächst aufblähen. Dann löst sich im Wasser der Blutfarbestoff (Hämoglobin), die Blutkörperchen werden blaß und entziehen sich mehr und mehr dem Auge des Beobachters. (**Schatten.**) Setzt man nun 5% Kalichloricumlösung hinzu, so schrumpfen die Blutkörperchen stark zusammen und nehmen dabei das verlorene Hämoglobin wieder auf. Ähnlich wirkt Kochsalz und Glaubersalz. Schwalbe E.

394. Man setze einem anderen Präparate verdünnte Essigsäure zu; die roten Blutkörperchen blähen sich im Momente der Berührung mit der Essigsäure auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbestoff abzugeben.

395. Man vergesse nicht, auch **Galle** desselben Tieres zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann; sie blähen sich auf und explodieren förmlich.

396. Die **Rindenschicht der Erythrozyten** ist für Kochsalzlösungen nicht durchgängig (Schrumpfung), wohl aber für Harnstoff.

Die Erythrozyten sind weiter impermeabel für: Natrium-, Kalium-, Kalzium-, Baryum-, Strontium- etc. Salze, ferner für Dextrose und Inosit; sie schrumpfen in diesen Substanzen. Permeabel sind sie für Ammoniumchlorid, Ammoniumacetat, Ammoniumoxalat, Methyl-, Äthylalkohol, Glyzerin, Acetamid, Biuret, Pyridin (Cohnstein, 96).

397. Den **Randfaden** von Meves demonstriert man an frischen roten Blutkörperchen von Salamandra mac. oder atra, indem man zu einem Blutstropfen Gentiana- oder Methylviolett in einer $^1/_4$—$^1/_2$%igen Lösung in physiologischer Kochsalzlösung zusetzt.

398. Für Untersuchung der Blutplättchen braucht man die **Afanassiewsche** (84) **Flüssigkeit:** 0,6 des trockenen Peptons, gelöst in 100 physiologischer Kochsalzlösung. Zu dieser Flüssigkeit wird im Verhältnis von 1 : 10000, ja sogar 1 : 20000 Methylviolett hinzugesetzt. Die Mischung wird gekocht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf der Haut, etwa der Fingerbeere, die vorher gut gereinigt worden ist, deponiert, unter

derselben ein Nadelstisch gemacht, so daß das Blut in die Flüssigkeit direkt eindringt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. Diese Flüssigkeit konserviert auch die roten und weißen Blutkörperchen.

Da diese Flüssigkeit leicht fault, so müssen die Gefäße, in welchen sie aufbewahrt wird, vorher sterilisiert, die gekochte Flüssigkeit filtriert und eine unbedeutende Menge von Sublimat oder Karbolsäure zugesetzt werden.

399. Ewald (97) empfiehlt für Blutkörperchen-Untersuchung **Osmiumsäure;** rote Blutkörperchen nehmen darin olivgrüne Farbe an (für Amphibien und Reptilien $^1/_2$%ig in 0,6% Kochsalz, für Säugetiere $^1/_2$%ig in 0,9% Kochsalz), 3—4 Tropfen Blut auf 10 ccm Flüssigkeit. Auf die Einschnittstelle kommt Flüssigkeit, damit das Blut gar nicht mit Luft in Berührung kommt, wie in § 398. Nach 24 Stunden bringt man den Bodensatz in ein Probierröhrchen, füllt mit Wasser auf, läßt absitzen und hebert mit dem von Mays eingeführten Heber (siehe § 376) die Flüssigkeit ab und wiederholt dies; für kernhaltige Blutkörperchen 24 Stunden in Alaunkarminlösung färben, dann wieder abhebern und 50%igen Alkohol zusetzen, in welchem sich die Blutkörperchen jahrelang (für Kurszwecke) halten. Einschließen entweder durch abs. Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam in derselben Weise (Heber) oder in Glyzerin. Auch in diesem Fall kann man die Zentrifuge mit Erfolg anwenden, Heidenhain (03a).

400. Um **rote Blutkörperchen auf Schnitten** (in den Gefäßen, fixierten Objekten entnommen) zu erkennen, gibt es eine Reihe von Färbemethoden.

401. Bei der Doppelfärbung mit **Hämalaun-Eosin** (siehe § 296) nehmen die roten Blutkörperchen eine eigentümliche leuchtendrote Farbe an, welche dieselben sofort als solche erkennen läßt.

402. Wissozky (77) hat das Eosin als Reagens auf hämoglobinhaltige Zellen in folgender Zusammensetzung empfohlen: Eosin 1, Alaun 1 und Alkohol 200.

Noch besser gelingt diese Reaktion, wenn man das Präparat vorher ein paar Minuten mit einer 1%igen Osmiumsäure behandelt (Thanhoffer, 77).

403. Eigentlich die stärkste Affinität zu roten Blutkörperchen zeigt die Pikrinsäure. Aus einer Mischung von Pikrinsäure mit einem anderen sauren Farbstoff färben sich die roten Blutkörperchen mit Pikrinsäure.

404. Für Sublimatpräparate empfiehlt R. Heidenhain (88) die **Ehrlich-Biondische** Färbung (siehe § 309), mittels welcher sich Blut orange färbt. — Sublimat-Kochsalz fixiert die roten Blutkörperchen relativ gut (besser wie Sublimat in Wasser gelöst) und löst das Hämoglobin nur wenig. (H. F. Müller.)

405. Zum Nachweis der **weißen Blutkörperchen** im Blut der Säugetiere setzt man einem Blutstropfen unter dem Objektträger einen Tropfen Essigsäure zu. Nachdem die roten Blutkörperchen undeutlich geworden sind (siehe § 393), treten die Kerne der weißen deutlich hervor.

406. Amöboide Bewegungen der weißen Blutkörperchen der Säugetiere kann man im Präparate sehen, wenn man dieselben einer Temperatur aussetzt, die etwa der Körpertemperatur entspricht; dies geschieht mittels des Wärmetisches. Dabei muß man rasch arbeiten. Bei gewöhnlicher Temperatur kann man amöboide Bewegungen der weißen Blutkörperchen von Amphibien (Frosch, Salamander) beobachten. Noch ausgiebigere Bewegungen sieht man an der Lymphe des Flußkrebses; siehe § 408.

407. Um mikroskopische Präparate einer andauernden, bestimmten höheren Temperatur aussetzen zu können, wurde eine Reihe von Apparaten, sogenannte **erwärmbare Objekttische**, konstruiert. Ein einfacher und wohlgeeigneter ist der von M. Schultze (65) angegebene. Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz in der Nähe dieser Öffnung ist ein Thermometer so befestigt, daß man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können. Durch Leitung wird so dem Tisch Wärme zur Erzeugung der gewünschten höheren Temperatur zugeführt. Es gibt moderne Apparate, welche handlicher sind und exakter arbeiten.

408. Beobachtet man amöboide (und andere vitale) Bewegungen in einer heizbaren Kammer auf Objektträgern aus gewöhnlichem **Glas**, so erlöschen die Bewegungen bald, das Glas ist giftig. Nimmt man aber Objektträger aus **Bergkristall** oder Quarz und ebensolche Deckgläschen (oder letztere aus Marienglas), so sind die Lebensäußerungen viel intensiver und dauern viel länger; so kann man einen Lymphozyten und Leukozyten tagelang beobachten. Die

erwähnten Objektträger und Deckgläser sind von Zeiß in Jena zu beziehen. (Deetjen 06.)

409. Einen indirekten Beweis der amöboiden Bewegung der Leukozyten erhält man, wenn man ein kleines Stückchen Hollundermark in den Lymphsack (am Rücken unter der Haut) eines Frosches bringt und die Wunde vernäht. Nach 24 Stunden tötet man das Tier, fixiert das Hollunderstückchen, durchtränkt es mit Paraffin, schneidet und färbt es. Man findet dann dasselbe durchzogen von Leukozyten.

Arnolds Methode ist die folgende: »Ich war so verfahren, daß ich die mittels des Mikrotoms möglichst fein geschnittenen und in kochender Chlornatriumlösung (0,6—0,7 %ig) sterilisierten Plättchen in den Lymphsack einschob. Nach wenigen Stunden sind die Maschen dieser mit Wanderzellen gefüllt. Nach ihrer Entfernung aus dem Lymphsack werden sie an einem mit Vaselin umrandeten größeren Deckglas aufgehängt und dieses auf einen hohlgeschliffenen Objektträger aufgelegt.«

410. Um die roten oder weißen Blutkörperchen zu fixieren, empfiehlt es sich, eine sehr dünne, auf dem Objektträger ausgebreitete Blutschicht mit **Osmiumsäuredämpfen** $^1/_4$—$^1/_2$ Minute zu **räuchern** (§ 49). Der Fleck des Objektträgers, welcher mit dem Blutstropfen in Kontakt kommen soll, wird ebenfalls vorher geräuchert. Untersucht wird in Wasser oder Kochsalzlösung.

411. Auf nach § 410 bereiteten Präparaten sieht man deutlich Glockenformen der Erythrozyten. Weidenreich will nachgewiesen haben, daß die **Glockengestalt der roten** Blutkörperchen die ihnen im lebenden Körper zukommende sei. »Die Weidenreichsche Ansicht über die Glockenform der roten Blutkörperchen wird von den meisten Hämatologen nicht geteilt.« (Nägeli.)

412. Räucherungen mit **Formalin**dämpfen, 5 Minuten lang, mit nachträglicher Fixierung in 95 %igem Alkohol, empfiehlt F. Huber.

413. Die **Ausbreitung des Blutstropfens** auf dem Objektträger, resp. Deckgläschen, geschieht, indem man einen frisch entnommenen Tropfen Blut sich zwischen zwei aufeinandergelegte Deckgläschen durch Kapillarität einsaugen läßt und dann die Gläschen auseinanderzieht. Oder man fängt einen kleinen Blutstropfen auf ein Deckglas, bringt ein zweites, ohne zu drücken, darauf, wartet bis sich das Blut zwischen ihnen ausgebreitet hat, und zieht sie nun langsam voneinander ab.

Die so ausgestrichenen **lufttrockenen Präparate** werden entweder bei 120° im Trockenschrank oder auf einem

Bornschen Tischchen an der Stelle, wo Wassertropfen als Kugeln fortrollen (Leidenfrostsches Phänomen) etwa 30 Sekunden getrocknet (Ehrlich).

Erwärmt man ein kupfernes Bornsches Tischchen stark, so sind die verschiedenen Stellen desselben nicht gleich stark erwärmt: die der Flamme näher gelegenen stärker, die davon entfernteren weniger stark. Tröpfelt man Wasser auf so ein Tischchen, so verdunstet es unter Kochen mehr oder weniger rasch. Eine schmale Zone macht davon eine Ausnahme; die Wassertropfen behalten ihre kugelige Form, bewegen sich lebhaft, sich fortrollend, und verdunsten erst, wenn sie in Nachbargebiete geraten. Die Temperatur dieser Zone beträgt 120—125°.

414. So behandelte Präparate kann man noch nachträglich färben, indem die Blutkörperchen durch die Gerinnung des im Serum enthaltenen Eiweißes (Serumalbumin) genügend auf dem Objektträger angeklebt sind, um die erforderlichen Operationen zu gestatten.

Sehr dankbar erweist sich hier die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und nachträglich (oder zuvor) mit Eosin.

415. Eine sehr gute Methode zur Herstellung von **Blutpräparaten** besteht darin, daß man Blut auf dem Objektträger möglichst dünn ausbreitet (siehe § 413) in der Luft trocknen läßt und dann rasch den Objektträger auf 10 Minuten in eine konzentrierte **Sublimatlösung** in physiologischer Kochsalzlösung (siehe § 68) steckt. Dann wird mit Wasser, welches mehrmals gewechselt wird, abgewaschen. Es kann aus dem Wasser direkt in die Farbe übertragen oder Alkohol eingeschaltet werden. Diese Methode fixiert Blut- und Lymphkörperchen relativ gut und gestattet, indem sie gleichfalls anklebt, eine Reihe von Doppelfärbungen (z. B. Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Eosin, resp. statt Eosin Orange u. a. m.).

416. Das Trocknen bei einer Temperatur von 120°, die man nicht ohne spezielle Vorrichtungen, vgl. § 413, erlangen kann, soll nach Nikiforoff vollkommen das Behandeln mit einer Mischung von absolutem **Alkohol und Äther** zu gleichen Teilen auf 1—2 Stunden ersetzen. (Alkohol soll ganz wasserfrei sein, was man mit geglühtem Kupfervitriol [siehe § 100] erzielen kann.) Nun werden die Präparate an der Luft getrocknet, und es kann weiter nach Ehrlich gefärbt werden, und zwar mit demselben Erfolge.

417. Ehrlich hat Zellen mit granuliertem Zelleib nach ihrem Färbungsvermögen mit Anilinfarben (vergleiche Ehrlichs Klassifikation der Anilinfarben in § 272) in verschiedene Gruppen eingeteilt, die er α—ε benennt. Dieselben sind folgende:

418. 1. **Eosinophile oder azidophile** Zellen mit α-Granulationen kommen vor in Blut, Lymphe und Geweben. Diese charakterisieren sich durch ihre Verwandtschaft zur großen Reihe der sauren Teerfarbstoffe, d. h. solcher, in denen die Säure das färbende Prinzip darstellt.

In erster Linie gehört hierher Eosin.

Man färbt entweder in in Glyzerin gesättigtem Eosin (resp. Indulin) oder gesättigter wässeriger Orange-, Eosin- oder Indulin-Lösung 12 Stunden, Spülen mit Wasser, Trocknen, Kanadabalsam. — Granula purpurrot. Um auch die Kerne zu färben, färbt man mit Hämatoxylin vor oder nach. — Oder: zu Ehrlichs Hämatoxylin (siehe § 257) kommt 1 g oder 0,5 g Eosin hinzu. Die Flüssigkeit läßt man vor dem Gebrauche 3 Wochen im Lichte stehen; sie färbt in einigen Stunden, Spülen in Wasser — Kerne blau, Granula leuchtend rot.

419. 2. Zellen mit **β-Granulationen** (**amphophile,** indulinophile) tingieren sich in sauren und basischen Farben. Sie kommen vor im Blut von Meerschweinchen, Kaninchen und Vögeln. — Darstellung: Gesättigte Lösung von Eosin, Naphthylamingelb, Indulin in Glyzerin; färbt, auf trockene Präparate angewandt, Hämoglobin gelb, Kerne schwarz, α-Granulationen rot, β-Granulationen schwarz.

420. 3. Zellen mit **basophilen γ-Granulationen** und »Mastzellen« färben sich mit allen basischen Farbstoffen, sie kommen vor im Bindegewebe (Mastzellen) und im Blut. Basophile Granula lösen sich leicht in Wasser und wässerigen, auch in schwachen alkoholischen Lösungen, sehr leicht. In starken alkoholischen basischen Farben bleiben sie dagegen unverändert. (Türks Lehrbuch). Ehrlich färbt sie mit Dahlia in gesättigter Lösung in: Acid. acet. glac. 12,5, Alkohol absol. 50, Aq. dest. 100 an getrockneten Präparaten oder in Alkohol mindestens 24 Stunden fixierten Stücken entnommenen Schnitten oder nach folgender Methode:

421. Alaun-Karmin-Dahlia (Westphal 80) wird auf Schnitte angewandt, welche mindestens eine Woche lang in Alkohol fixiert worden sind: Karmin 2 g, destill. Wasser 200 ccm, Alaun 2 g.

Das Ganze wird $^1/_4$ Stunde gekocht, filtriert (Partsch-Grenacherscher Karmin) und 1 ccm Karbolsäure hinzugesetzt. Zu dieser Karminlösung werden 200 ccm gesättigte Dahlialösung in absolutem Alkohol, 100 ccm Glyzerin und 20 ccm Eisessig hinzugefügt. Das Ganze wird umgerührt und einige Zeit stehen gelassen. In dieser Flüssigkeit beläßt man die in Alkohol fixierten Stücken entnommenen Schnitte 24 Stunden und länger und überträgt sie dann auf ebensolange Zeit in absoluten Alkohol. Die Schnitte entfärben sich, nur die Kerne behalten etwas von der rötlichen Farbe, es bleiben aber die Granulationen der Mastzellen (auch Knorpelgrundsubstanz) intensiv blau. Material: Interlobuläres Bindegewebe der Leber, Darm etc., dünne Nerven des Frosches. Die γ-Granula färben sich metachromatisch.

422. 4. Zellen mit δ-Granulationen (basophile) Ehrlichs; es sind sehr feine Granula, die in mononukleären Leukozyten des menschlichen Blutes vorkommen. Sie werden an erhitzten und unerhitzten Präparaten mit wässeriger konz. Methylenblaulösung dargestellt.

423. 5. **Neutrophile Granulationen** (ε-Granula) in Leukozyten des menschlichen Blutes, auch Eiters, werden an getrockneten Präparaten gefärbt. Darstellung des neutralen Farbstoffes nach Ehrlich: 5 Volumina einer gesättigten Säurefuchsinlösung in Wasser, setze unter Umrühren 1 Volumen einer starken wässerigen Methylenblaulösung und 5 Volumina Wasser zu, lasse einige Tage stehen und filtriere. Man lasse die Farbe 2—5 Minuten einwirken, spüle kurz mit Wasser ab; mit Fließpapier absaugen, trocknen, Kanadabalsam. Rote Blutkörperchen werden dann rot, ε-Granulationen violett, α-Granula leuchtend purpurn.

424. Lefas (04) fixiert Blutausstrichpräparate in Alkohol oder Eisessig-Sublimat 1—2 Stunden und färbt mit Vesuvin S 5% 10 Minuten. Die neutrophilen Granula werden hellbraun, die acidophilen dunkelbraun.

Färbt man mit der Ehrlich-Biondischen Lösung (siehe § 309) wenige Minten, so werden Hämoglobin gelb, α-Granulationen leuchtend rot, ε-Granulationen rot. Die basophilen Granula sind nicht gefärbt. Für die Darstellung der neutrophilen Granulationen ist die Ehrlich-Biondische Färbung die allein maßgebende.

425. May und Grünwald haben einen Farbstoff angegeben, der bei einer äußerst einfachen Anwendung außerordentlich viel leistet.

Der Farbstoff entsteht bei Mischung von **Methylenblau**lösung mit **Eosin** als Niederschlag; seine Lösung in Methyl-

alkohol ist haltbar und zur Färbung vorzüglich geeignet. 1 l 1% ig. Eosin »wasserlösliches, gelbliches,« wird mit 1 l 1‰ ig. Methylenblau medizinale gemischt und nach einigen Tagen mit Hilfe der Saugpumpe filtriert. Das Filter wird mit kaltem, destilliertem Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat fast ungefärbt bleibt. Der Filterrückstand bildet eine nach dem Trockenwerden dunkle, sich abblätternde Masse, den neuen Farbstoff.

426. Die gesättigte methylalkoholische Lösung dient zum Färben; sie ist haltbar. Die Präparate brauchen nicht fixiert zu werden. Die Lösung hält sich am besten in einem weiten, gut verschließbaren Standgefäß vorrätig. In dieses wird der frisch mit Blut beschickte Objektträger nach dem festen Antrocknen auf 3 Minuten (eventuell länger, bis zu 24 Stunden) eingestellt und dann in destilliertem Wasser, welchem einige Tropfen der Lösung zugesetzt sind, im Standglas 10—15 Minuten ausgeschwenkt. Dann überträgt man die Präparate direkt für einen Augenblick in dest. Wasser, trocknet mit Fließpapier. Die Prozedur dauert 5 Minuten. Resultate: Erythrozyten hellrot, Kerne tiefblau, Leukozytenkerne mäßig tiefblau, α-Granula tiefrot, γ-Granula tiefblau, scharf erkennbar, ε-Granula feine, hellrote Körnchen auf ungefärbtem Grunde, Blutplättchen blaßblau. Die Präparate müssen in einem absolut neutralen Wasser differenziert werden. Man prüfe das Wasser zuvor mit Phenolphtalein; bei Gegenwart von Alkali tritt bekanntlich rote Färbung ein.

Die Präparate blassen unter dem Deckglase in Kanadabalsam bald ab; deshalb ist es ratsam, die Deckgläser mit der Blutschicht nach oben auf den Objektträger mit Kanadabalsam aufzukleben und so aufzubewahren. E. Meyer-Rieder.

427. Die neue Methode von R. May 06 besteht darin, daß man die mit der vorhergehenden Methode gefärbten Präparate mit **Methylenazur nachfärbt.** Die Blutpräparate werden zunächst nach der Färbung nach May-Grünwald, d. h. mit einer ca. 0,25%igen methylalkoholischen Lösung von eosinsaurem Methylenblau, 1 Minute in dest. Wasser ausgewaschen und dann mit 0,5%iger Methylenazurlösung gleichmäßig bedeckt. Nach 2—4 Minuten ist die gewünschte Färbung erreicht; man trocknet die Präparate mit Fließpapier sofort, oder nachdem man sie mit Wasserleitungswasser abgespült hat und schließt in Kanadabalsam ein. Die Kerne werden rot, auch die der

Blutplättchen, welche am raschesten die Farbe annehmen. Das Protoplasma der Lymphozyten erscheint bläulich, die roten Blutkörperchen rötlich, Granula der Leukozyten grau, die der Mastzellen rotviolett. Man darf keine zu konzentrierten Azurblaulösungen anwenden. Saubere Arbeit ist für das Gelingen der Präparate unerläßlich. Hat man auf dem Präparate nach der Differenzierung mit dest. Wasser einen Niederschlag von essigsaurem Methylenblau erhalten, so kann man ihn durch längeres Waschen, namentlich in dest. Wasser, mit Leichtigkeit entfernen.

428. Azurfärbungen (modifizierte Romanowsky-färbungen) beruhen auf der Anwesenheit einer von L. Michaelis untersuchten Modifikation des Methylenblaus, die sich leicht in allen Methylenblaulösungen bildet: Methylenazur. In Form von Giemsascher Lösung, die **Methylenazur, Methylenblau und Eosin** in Glyzerin und Methylalkohol enthält, gibt die Methode verhältnismäßig zuverlässige Resultate. a) Fixation des Ausstrichpräparates in reinem Methylalkohol 2—3 Minuten; b) Trocknen zwischen Fließpapier und Färben 10—15 Minuten in der frisch bereiteten Verdünnungslösung der **Giemsa**schen Original**lösung**: auf je 1 ccm destilliertes Wasser einen Tropfen Farblösung; c) Abspülen mit Wasser, Abtupfen mit Fließpapier, Einlegen in Kanadabalsam. Die roten Blutkörperchen sind gelbrot, die Kerne der Leukozyten und Erythroblasten sind violettrot, die eosinophile Granula hellrot, die neutrophilen Granula der polymorphkernigen Leukozyten violettrot, das Protoplasma der Lymphozyten blau gefärbt. Außerdem erkennt man in großen Lymphozyten, Übergangsformen und manchen anderen Zellen azurophile Granula. E. Meyer und H. Rieder 08.

429. R. Heidenhain (88) empfiehlt die von ihm modifizierte Biondi-Ehrlichsche Färbung (siehe § 309) zur Unterscheidung folgender Arten von Wanderzellen in Schnitten:

1. Zellen mit einem sehr kleinen, fast farblosen Protoplasmaleibe,
2. mit größerem hell-rosa gefärbtem Protoplasma,
3. Körnchenzellen,
4. Zellen mit intensiv dunkel-blaugrünem Kern und intensiv dunkelrotem Protoplasma (nach der Annahme Heidenhains untergehende Formen).

430. Bürker empfiehlt eine einfache Methode, **Blutplättchen** in Mengen zu gewinnen. Man reinigt eine Fingerkuppe, wie gewöhnlich mit Alkohol-Äther, sticht ein und läßt einen großen Blutstropfen auf eine glatte Paraffin-

fläche, z. B. einen paraffinierten Objektträger, fallen. Man stellt dann das Ganze auf 20—30 Minuten in einen auf 37° geheizten Thermostaten. Der Tropfen gerinnt nicht, und die spezifisch leichteren Blutplättchen sammeln sich oben. Wenn man nun die Kuppe des Tropfens mit einem Objektträger oder einem Deckglase berührt, bleiben Blutplättchen massenhaft kleben.

431. Thrombozyten (**Blutplättchen**) kleben bei gewöhnlicher Herstellung der Blutpräparate am Glase so fest, daß sie durch einen durchziehenden Wasserstrom nicht weggeschwemmt werden. Sie sind in Kalilauge von 33% unlöslich, wohl aber in schwachen Konzentrationen. Am besten konservieren sich die Thrombozyten in Osmiumsäure oder osmiumsäurehaltigen Gemischen; auch Jod-Jodkaliumlösung, Hayemsche Flüssigkeit usw. erhalten sie. Tetrajodfluoreszein, gelöst in Toluol oder Chloroform, färbt das Protoplasma der Thrombozyten und das der Leukozyten rot. Um die Kerne (?) der Thrombozyten zu färben, nehme man Thionin; nach kurzer Färbung spüle man mit Wasser ab und färbe mit einer halbgesättigten Pikrinsäurelösung nach. Kopsch.

432. Schridde (05) stellt Leukozyten**granula** usw. **auf Schnitten** her. Fixation mit Orthscher Flüssigkeit. Man befestigt die Schnitte von 5 μ Dicke mit Wasser oder mit dünner Eiweißglyzerinlösung. Man färbt mit verdünnter, frisch zubereiteter Giemsalösung (§ 428), 1 Tropfen auf 1 ccm Wasser, 20 Minuten. Nach sorgfältiger Waschung mit Wasser trocknet man die Schnitte mit Fließpapier, bringt sie auf 1 Minute in Azeton, überträgt sie dann in Xylol und Kanadabalsam. Alle zur Verwendung kommenden Flüssigkeiten müssen säurefrei sein. Die Methode ist sicher und geht nach jeder Fixierung, wenn auch nicht so gut wie nach der mit Orthschem Gemisch. Neutrophile Granula erscheinen violett, basophile dunkelblau; die Kerne werden rot, rote Blutkörperchen grasgrün usw.

Zieler färbt Schnitte nach demselben Prinzip in konzentrierter Lösung der May-Grünwaldschen Farbe, § 425, 2—3 Minuten.

433. Plehn (90) untersucht Blut zwischen zwei Tropfen Paraffinum liquidum (erst ein Tropfen, darauf Blut, darauf zweiter Tropfen, Deckgläschen).

434. Um die **Hämoglobin-** (Blut-) Kristalle (vergleiche darüber C. B. Reichert [49b]) herzustellen, verfahre man folgendermaßen: man entnehme einem frisch getöteten Tiere,

Pferde, Meerschweinchen, etwas Blut und defibriniere es durch Schlagen oder durch Schütteln mit Quecksilber. Das so defibrinierte Blut wird mit Schwefeläther, welchen man tropfenweise zusetzt, längere Zeit geschüttelt, bis die bekannte Lackfarbe auftritt. Dieses lackfarben gewordene Blut darf unter dem Mikroskop keine intakten roten Blutkörperchen mehr zeigen. Der rote Blutfarbestoff ist gelöst. So defibriniertes und lackfarben gewordenes Blut wird in einem flachen Gefäß auf 12 bis 24 Stunden auf Eis gestellt. Wenn man nun einen Tropfen auf einen Objektträger bringt, $^1/_2$ Stunde liegen läßt (man kann die Prozedur dadurch abkürzen, daß man den Objektträger gelinde erwärmt), so fängt der Tropfen an zu trocknen, und zwar zunächst am Rande, wo sich ein dunkler, fester Ring bildet. Bedeckt man den Tropfen mit einem nicht allzugroßen Deckglase, so fangen zunächst in der unmittelbaren Nähe des Ringes und an demselben zahlreiche Kristalle an sich zu bilden, deren Entstehen man unter dem Mikroskop auch mit starker Vergrößerung direkt beobachten kann.

Das Anfertigen eines Dauerpräparates ist nicht lohnend wegen der Kompliziertheit des hierbei einzuschlagenden Verfahrens.

Man kann diese Kristalle in dickem Kanadabalsam sich bilden lassen. Solche Kristalle halten sich monatelang.

435. Schließt man defibriniertes Blut hermetisch in eine Glasröhre, läßt sie in einem Thermostat (40° C) zwei bis drei Tage liegen, zerbricht das Gläschen und läßt das so behandelte Blut in eine flache Schale ausfließen, so bilden sich schon mit bloßem Auge sichtbare **Hämoglobinkristalle** (Gscheidlen, 76).

436. Man nehme einen Tropfen Blut und verreibe denselben mit einem ebenso großen Tropfen Kochsalzlösung (auf die Konzentration kommt es nicht an), etwa mit einer Nadelspitze, sorgfältig. Dann erwärme man vorsichtig, bis ein trockener, rostbrauner Rückstand verbleibt, bedecke diesen mit einem Deckglase, lasse Eisessig zufließen und bringe durch Erwärmen den Eisessig ein paarmal zum Kochen, wobei darauf zu achten ist, daß das Deckgläschen nicht abspringt. (Die Prozedur des Aufkochens wird wiederholt, indem man die verdunstete Flüssigkeit [Eisessig] durch eine frische ersetzt.) Ist der Eisessig verdunstet, so kann man direkt Kanadabalsam unter das Deckgläschen zufließen lassen. Es haben sich zahllose braunschwarze Kristalle gebildet, welche in Kanadabalsam dauernd aufgehoben werden können. Es sind die Teichmannschen (53) **Häminkristalle** (Hämin = salzsaures Hämatin).

Diese Kristalle sind fast unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Ammoniak, Eisessig, verdünnter Schwefel- und Salpetersäure; sie lösen sich in Kalilauge.

Als Verunreinigung kommen amorphe Hämatinmassen und Kochsalzkristalle in solchen Präparaten vor.

437. Man kann gelegentlich noch ein Derivat des Blutfarbestoffes in apoplektischen Herden, in den gelben Körpern der Eierstöcke usw. antreffen. Es sind rotgelbe Massen, die aus fuchsroten, rhombischen, eisenfreien **Hämatoidinkristallen** bestehen (Virchow, 47).

Man kann sie in Kanadabalsam aufbewahren.

438. Kristallhaltige Blutkörperchen erhält man bei Salamanderblut, wenn man 3—4 Tropfen in einem Uhrschälchen mit 10 ccm verdünnter, 0,45 %iger Kochsalzlösung auffängt, 24 Stunden stehen und absitzen läßt; sie können dann in der von Ewald (97) in § 375 f. angegebenen Weise durch 1 %ige Osmiumsäure (Zusatz einer gleichen Menge zur Kochsalzlösung) konserviert werden. Es lassen sich nach der Rollettschen Methode durch Gefrieren und Wiederauftauen erhaltene kristallhaltige Säugetier-Blutkörperchen (am besten Hundeblut) in derselben Weise mit Osmiumsäure konservieren.

439. Um **Fibrin** auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der anderen Seite mit Fließpapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, setzt man Jod-Jodkaliumlösung hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und -netze intensiv gelb bis braun färben.

440. Fibrinfärbung (Neelsen, Grundriß der path.-hist. Technik). Methode von Weigert. Härtung am besten in Alkohol. Die Schnitte kommen auf mindestens 10 Minuten in konz. Anilinwasser-Gentianaviolettlösung, dann werden sie flüchtig in 0,6 %iger Kochsalzlösung abgespült und in einem Schälchen (oder bei empfindlichen Schnitten besser auf dem Objektträger) mindestens 10 Minuten lang mit Jod-Jodkalilösung (1 : 2 : 300) oder gesättigter Lösung von Jod in 5 % Jodkalilösung behandelt, dann auf dem Objektträger ausgebreitet, durch Abtupfen mit Fließpapier möglichst getrocknet und so lange mit mehrfach gewechseltem Anilinöl (2 Teile auf 1 Teil Xylol) entfärbt, bis sie durchsichtig geworden sind und die Färbung distinkt erscheint. Das Anilinöl wird durch das Xylol sorgfältig entfernt, dann wird in Balsam eingeschlossen.

441. Fibrinfärbung nach Kockel (99). Die in Paraffin eingebetteten Stücke (56° C Schmelzpunkt wird empfohlen!) werden dünn geschnitten (5 μ), nach der in § 185 angegebenen Methode (mit Eiweißglyzerin) auf dem Objektträger befestigt,

von Paraffin befreit und durch Alkohol und Wasser in eine 1—5%ige wässerige Chromsäurelösung für 5—10 Minuten übergeführt. Nach kurzem Waschen in destilliertem Wasser (Sekunden! Die Schnitte dürfen ihre gelbe Farbe nicht verlieren) kommen die Schnitte auf 15—20 Minuten in die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylinlösung (1,0 Hämatoxylin, Alc. abs. 10,0, Aq. dest. 90,0, nach Lösung wird 1 ccm konz. wässerige Lithionkarbonatlösung hinzugefügt). Mit Wasser abgespülte Schnitte werden ca. 1 Minute mit konz. wässeriger Alaunlösung (etwa 10%), bis sie sich dunkelblau färben, behandelt, um wieder mit Wasser ausgewaschen zu werden. Jetzt wird 3—6 Minuten in Weigertscher Borax-Ferricyankaliumlösung (Borax 2,0, Ferricyankalium 2,5, dest. Wasser 100,0), die mit etwa der dreifachen Menge Wasser verdünnt wird, differenziert. Auswaschen in Wasser. Färbung, um die Kerne hervorzuheben, etwa mit Alaun-Karmin. Einschließen sofort in Kanadabalsam. Diese Kockelsche Methode färbt zwar nicht Fibrin ausschließlich, sondern auch (wie mitunter die Weigertsche) Muskeln (glatte zeigen fibrilläre Streifung), Blutkörperchen, Gallenkapillaren etc.; dieser Umstand gibt aber zu keiner Verwechslung Veranlassung.

442. Schueninoff **färbt Fibrin** mit Malloryschem phosphorwolframsäurehaltigem Hämatoxylin, siehe § 261, 15—20 Minuten, spült mit Wasser ab, behandelt die Schnitte weiter mit 5—10%iger Phosphorwolframsäure 20 Minuten bis 20 Stunden, wäscht mit Wasser aus und schließt durch Alkohol und Xylol in Kanadabalsam ein.

443. Man kann den **Blutkreislauf** an zahlreichen Objekten studieren. Die bequemsten sind die im Sommer so zahlreich zu habenden Kaulquappen der Frösche und Kröten (auch Tritonenlarven). Der dicke Körper und der Kopf solcher Quappen wird in mit Wasser getränktes Fließpapier eingewickelt, und das Tier so auf den Objektträger gelegt. Die Quappe bewegt sich zunächst lebhaft, fängt aber bald an, asphyktisch zu werden und beruhigt sich. In dünnen Membranen, z. B. auslaufenden Rändern und der Spitze des Schwanzes, kann man schon mit mittelstarker Vergrößerung den Blutkreislauf beobachten. Beim ausgewachsenen Frosch können zahlreiche Stellen für die Beobachtung des Blutkreislaufes zugänglich gemacht werden.

444. Um Frösche unbeweglich zu machen, pflegt man sie mit **Kurare** zu vergiften. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der willkürlichen quergestreiften Muskulatur, nicht aber auf die des Herzens und der glatten Muskeln. Auch die sensiblen Bahnen bleiben frei. Wenn man einem Frosch eine geeignete Dose in den Lymphsack einspritzt, so wird er nach einiger Zeit bewegungslos. Die Herzbewegungen aber, resp. der Blutkreislauf, dauern fort.

Da man bis jetzt nur mit dem Extrakt Kurare und nicht mit einer rein dargestellten chemischen Substanz arbeiten kann, so ist eine genaue Dosierung eine Unmöglichkeit. Von der sog. 1%igen wässerigen Lösung wende man etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ g für einen Frosch mittlerer Größe an. Dasselbe wird in den Rückenlymphsack injiziert. Tritt der erwartete Erfolg nach einer Stunde nicht ein, so wiederhole man die Einspritzung. Eine zu starke Wirkung bei den angegebenen Dosen, die den Stillstand des Herzens herbeiruft, haben wir bisher nicht beobachtet.

445. Führt man in das Maul des Frosches ein paar Tropfen Weingeist ein, so wird das Tier in einigen Minuten auf kurze Zeit unbeweglich. (Rudnew 76).

446. An einem so kurarisierten Frosch kann man den Blutkreislauf, z. B. an den durchsichtigen Schwimm-Membranen, ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen auseinander und befestigt sie vermittelst zweier sog. Insekten-(Karlsbader-)Nadeln über eine in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so groß gewählt, daß der Frosch auch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte.

Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die aus dem Munde gezogene und mit Nadeln über eine mit Ausschnitt versehene Korkplatte gespannte Zunge dazu verwenden; auch das Mesenterium läßt sich durch einen in der Axillarlinie gemachten Einschnitt mit einer Darmschlinge aus der Bauchhöhle hervorziehen, siehe Cohnheim (67 b); für die Lunge verfahre man nach Holmgren (74) (Holmgrensche Kammer).

Ewald (97) emfiehlt die Untersuchung des Blutkreislaufs an der Tritonlunge und gibt die erforderlichen Anweisungen hierzu, S. 248.

Ferner kann der Blutkreislauf der Harnblase (Hällstén, 86) an den quergestreiften Muskeln usw. untersucht werden.

Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äußere Kiemen von Tritonenlarven und namentlich die so langen und üppigen äußeren Kiemen der Salamanderembryonen können, wenn gerade das Material hierzu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen, siehe § 894) können zu demselben Zwecke gebraucht werden.

447. Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Wandstromes, auf das Pulsieren in den Arterien usw. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren. An den Bifur-

kationsstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (auf das zwei- bis dreifache ihrer ursprünglichen Länge) gedehnt. Wird ein Blutkörperchen wieder frei, so nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an (Elastizität).

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen usw. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefaßt werden, und man sieht u. a. das Auswandern der weißen Blutkörperchen durch die Gefäßwände.

448. Der Blutkörperchen-Zählapparat von Thoma (Abbe, 78), zu beziehen durch C. Zeiß in Jena, besteht aus einer gläsernen Kapillarröhre, welche in ihrem oberen Drittel mit einer Ausbuchtung versehen ist, in der eine kleine Glaskugel liegt. Das vordere Ende des Röhrchens ist mit einer Teilung versehen, und zwar von 0,1, 0,5, 1, bis zur Marke 101. Weiter ist dem Apparate eine von Abbe und Zeiß konstruierte Zählkammer beigegeben. Dieselbe ist auf einem Objektträger aufgekittet, genau 0,1 mm tief. Der Boden derselben ist in mikroskopische Quadrate geteilt. Der Raum über jedem Quadrat beträgt $^1/_{4000}$ mm. Je 16 solcher Quadrate sind durch besonders starke Linien markiert. Ausführung der Bestimmung: Es wird Blut in die Kapillare bis zur Marke 0,5 oder 1 eingesaugt. Dann wischt man die Spitze des Kapillarröhrchens ab und saugt in die Kapillare $^3/_4$% Kochsalzlösung bis zur Marke 101 ein. Dann wird die Flüssigkeit gut durchgemischt und die in der Kapillare befindliche Flüssigkeitssäule durch Lufteinblasen entfernt (die Kapillare wird nach dem Gebrauche mit Wasser, dann mit Alkohol, dann mit Äther gereinigt). Mit dem Blutkochsalzgemenge füllt man die Glaskammer des Objektträgers, legt das Deckglas darauf und untersucht, nachdem man das Präparat einige Minuten stehen ließ. Man zählt immer 16 Quadrate durch und zieht aus den erhaltenen Zahlen das Mittel. Die Berechnung der Zählungen geschieht folgendermaßen: War das Blut bis zur Marke 0,5 aufgesogen, so ist die Verdünnung 1 : 200; war Blut bis zur Marke 1 in der Kapillare, so ist die Mischung 1 : 100. Multipliziert man die in den gezählten Quadraten gefundene Anzahl von Blutzellen mit 4000 und je nach der Verdünnung noch mit 100 oder 200 und dividiert durch die Zahl der gezählten Quadrate, so erhält man die Anzahl der Blutzellen in 1 ccm Blut. Zieht man eine mit etwas Gentianaviolett gefärbte $^3/_4$%ige Kochsalzlösung in Anwendung, so ist es leichter, die auf diese Weise blau gefärbten Leukozyten von den meist blaß-roten Blutzellen zu unterscheiden, also auch zu zählen.

Weitere Literatur für Kap. 4: Ehrlich 91, E. Meyer und H. Rieder, Nägeli.

4. Kapitel. **Bindegewebe und Fett.**

449. Man fange mit **parallelfaserigem Bindegewebe** an; am leichtesten findet man bequeme Objekte in den Sehnen des Schwanzes einer eben getöteten Maus oder Ratte. Wenn man ein paar Endwirbel des Schwanzes mit den Nägeln samt der Haut abzwickt und die Wirbel durch Ziehen entfernt, so folgen einige dünne, glänzende, lange Fäden nach, die Sehnen.

450. Ein Stückchen solcher Sehne wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der Methode der **Halbeintrocknung** (Ranvier, 89) auf dem Objektträger gefasert, d. h. es wird mit möglichst wenig Flüssigkeit gezupft, wobei man jedoch sorgt, daß das Objekt während des Faserns nicht eintrockne, was man am besten dadurch bewerkstelligt, daß man während des Faserns den Objektträger anhaucht. Man untersuche solche Präparate zunächst in einer konzentrierten Lösung von Neutralrot in physiologischer Kochsalzlösung.

451. Solchen gefaserten Präparaten setze man etwas von einer z. B. 1 %igen **Essigsäure**lösung zu; die Fasern, resp. die Fibrillen, quellen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, daß sie kaum mehr zu sehen sind. Deutlich werden dann die Kerne der Sehnenkörperchen.

452. Kalilauge, namentlich verdünnt und in der Wärme, bringt diese Sehnenfasern und Fibrillen in Lösung.

453. Die die Fibrillen verklebende muzinartige Substanz löst sich in Kalk- und Barytwasser — eine für Bindegewebsfibrillen von Rollett (58) empfohlene Isolationsmethode. Mit **Kalkwasser** behandle man Sehnenfasern 6—8 Tage; mit **Barytwasser** 4—6 Stunden. Will man solche Präparate dauernd konservieren, so muß man vorher das Kalk-, resp. Barytwasser, vorsichtig neutralisieren. Im nekrotischen Gewebe zeigen die Fasern einen fibrillären Zerfall. (Ranvier, 89.)

454. In Schnitten bringe man Bindegewebsfibrillen nach der Methode von Hansen zur Darstellung.

Hansens Bindegewebsfärbung. Hansen 98a, 05, fertigt eine Stammlösung:

100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung,
5 ccm 2 %ige Säurefuchsinlösung in Wasser.

Will man intensivere Färbungen erzielen, so nehme man etwas mehr Säurefuchsin — 7,5—10 ccm —, färbe aber

dann kürzere Zeit — 1 Minute oder nur 20—30 Sekunden. (Diese Mischung kann längere Zeit aufbewahrt werden.)

Vor dem Gebrauche setzt man zu 30 ccm dieser Stammlösung 7 Tropfen 1%iger Essigsäure hinzu. Man färbt 20 Minuten bis 24 Stunden, tropft ab und bringt in Wasser, welchem man auf 30 ccm 20 Tropfen der zuletzt genannten angesäuerten Farbe zusetzt, für wenige Sekunden, entwässert in 96%igem Alkohol, den man einmal wechselt, 3 Minuten und überträgt in abs. Alkohol, den man ebenfalls erneuert, auf 5 Minuten. Dann kommt Xylol, dicker Kanadabalsam. — Bindegewebsfibrillen rot, alle anderen Bestandteile der Schnitte gelb. Vorfärbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig. Pikrinsäure löst sich in starkem Alkohol rascher, wie Säurefuchsin. Die Färbung vergeht bald, wenn man Schnitte mit Objektträgern und Deckgläsern aus gewöhnlichem Glas in Berührung bringt. (Schaffer 96.) Man kann die Präparate unbegrenzt lange erhalten, wenn man Objektträger und Deckgläser aus Quarz z. B. benützt. Vgl. § 299 und 301.

455. Schaffer (96, 99) verwendet zur elektiven Bindegewebsfärbung gesättigte, wässerige **Pikrinsäure** 100, Patent-**Säurerubin** 0,15, Eisessig 2 Tropfen. Vorbehandlung Sublimat oder Alkohol, Färbedauer 1 Minute bis Stunden, wenn mittels Hämatoxylin-Tonerde vorgefärbt wurde; direkt in 95%igen Alkohol, darin gut ausschwenken.

Wo es sich um die Wahrnehmung dünnster Häutchen von der Fläche handelt, empfiehlt Schaffer (99) eine von Freeborn angegebene **Pikro-Nigrosin**färbung. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte werden $^1/_2$ Stunde (Freeborn sagt 3 Min.) oder länger in einem Gemische von gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung 90, 1%iger wässeriger Nigrosinlösung 10 gefärbt, ausgewaschen, entwässert und in Balsam eingeschlossen: Muskelfasern graugrün (Verdichtungs- und Kontraktionsknoten leuchtend gelb), Bindegewebe blauschwärzlich.

456. Mallory (00) gibt eine, wenn gelungen, ausgezeichnete Bindegewebsfärbung an: in Sublimat oder Zenkerscher Flüssigkeit fixierte Objekte werden geschnitten, mit Wasser auf dem Objektträger befestigt und in folgender Weise gefärbt: 1. 3 Minuten in einer 0,1%igen Säurefuchsin-Lösung in destilliertem Wasser, 2. Auswaschen in Wasser, 3. einige Minuten in 1%iger Phosphor-Molybdänsäure, 4. gut auswaschen in Wasser, 5. Färben

in einer Lösung von Anilinblau 0,5, Orange G 2,0, Oxalsäure 2,0 in 100 Wasser (die Lösung wird gekocht und dann abgekühlt), 2 Min. lang, 6. Auswaschen in Wasser, 7. Alkohol, 8. Xylol, 9. Kanadabalsam. Resultate: Bindegewebe und retikuläres Bindegewebe blau, Achsenzylinder, Neuroglia etc. rot. Man kann auch Säurefuchsin weglassen. NB. Säurefuchsin wird von Alkohol gar nicht, stark aber von Wasser angegriffen, umgekehrt verhält sich das Anilinblau.

457. Frl. Sabin behandelt die Schnitte nach etwas modifizierter Mallory'scher Methode: nach Fuchsin S folgt gleich Phosphor-Molybdänsäure, und dann färbt sie direkt mit dem Gemisch: Anilinblau, Orange G, Oxalsäure (in 5.), nimmt aber 1 g Anilinblau. Nach 6. trocknet Sabin die Schnitte mit Fließpapier und geht zu 8. über. (Mall, American Journ. Bd. 1.)

458. Maresch hat die Methode von **Bielschowsky** auf **Bindegewebsfibrillen** mit großem Erfolg angewandt und populär gemacht. Sie **färben** sich sehr intensiv und konstant schwarz, so daß man viel feinere Gebilde färberisch darstellen kann wie mit anderen Methoden. Ob kollagene Fibrillen allein sich färben, ist noch nicht ausgemacht. Man fixiert mit 10%iger Formollösung, wäscht in fließendem Wasser ca. 6 Stunden aus und zerlegt das Objekt mit dem Gefriermikrotom in etwa 10 μ dicke Schnitte. Die Gefrierschnitte werden in dest. Wasser gebracht und kommen nach kurzer Zeit in 2% Silbernitratlösung, worin sie 24 Stunden, und auch länger, verweilen. Nach raschem Spülen mit Wasser kommen die Schnitte in eine frisch zu bereitende ammoniakalische Silbersalzlösung: zu 20 ccm einer 2%igen Silbernitratlösung setzt man unter Schütteln 1—3 Tropfen einer 40%igen Natronlauge zu, wobei sich ein schwarzbrauner Silberoxydniederschlag bildet; dieser wird durch tropfenweisen Zusatz von Ammoniak unter Schütteln resp. Umrühren mit Glasstab eben gelöst. — In dieser Lösung verbleiben die Schnitte 2—10 Minuten. Nach Durchziehen durch dest. Wasser werden sie in 20%ige, mit gewöhnlichem Wasser (Brunnen-, Wasserleitungswasser) hergestellte Formollösung übertragen, in welcher sie schiefergrau werden; nach etwa 10—15 Minuten werden die Schnitte mit Brunnenwasser gewaschen und in ein Goldbad übergeführt (2—3 Tropfen Goldchloridlösung von 1% auf 10 ccm dest. Wasser und ebensoviele Tropfen Eisessig); man beläßt sie im Goldbad, bis sie eine

rot-violette Farbe angenommen haben; die Umfärbung dauert 1—2 Stunden, selten länger. Die in dest. Wasser gewaschenen Schnitte werden nun in Natriumthiosulfat (Fixiernatron) fixiert (1 Minute), sehr sorgfältig in dest. Wasser 12—24 Stunden gewaschen, entwässert usw. und in Kanadabalsam übergeführt.

Man kann auch Paraffinschnitte, nach Fixierung mit Formol, fast in derselben Weise und mit demselben Erfolge nach Bielschowsky behandeln. Man versilbert aber im Thermostaten (37°), und zum Schlusse fischt man die Schnitte mit mit Eiweißglyzerin z. B. beschickten Objektträgern auf und behandelt sie wie mit Eiweißglyzerin usw. angeklebte Schnitte weiter.

459. Grobe Fasern des **elastischen** Gewebes verschafft man sich vom Ligamentum nuchae, z. B. eines Rindes. Das Fasern geht hier bei weitem nicht so leicht von statten; die isolierten **Fasern** krümmen sich eigentümlich (Bischofstabform).

460. Die **Reagenzien,** Essigsäure und Kalilauge wirken auf solche Fasern, in der eben angegebenen Weise angewandt, kaum; elastische Fasern sind sehr resistent, namentlich der Kalilauge gegenüber. Diese letztere Eigenschaft kann man mit Vorteil benützen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man verfahre also: Eine dünne Lamelle, z. B. einer frischen Lunge entnommen, wird mit Kalilauge behandelt; nach einiger Zeit — ein paar Stunden — fangen Bindegewebe, Blut usw. sich zu lösen an, und es bleiben die feinsten Fäserchen, welche die Alveolen umspinnen, übrig.

Zum Nachweis der elastischen Fasern in Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens und der Methode mit angesäuertem Orzein.

461. Weigerts (98) **Färbung** elastischer Fasern gelingt nach allen üblichen Fixierungen, besonders nach Alkohol und Formolfixation, aber auch nach Müllerscher und Flemmingscher Lösung und bei Zelloidin- und Paraffinschnitten. Man bereitet sich eine Lösung von 1% Fuchsin (Synonyma: Rubin [nicht Rubin S.!], Magentarot, Anilinrot) in 2%iger Resorzinlösung in Wasser. Von der Resorzin-Fuchsinlösung werden 200 ccm in einer Porzellanschale gekocht. Wenn richtiges Kochen eingetreten ist, setzt man 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. III zu und kocht dann unter Umrühren 2—5 Minuten. Man

läßt nun abkühlen und filtriert. Der auf dem Filter bleibende Niederschlag wird mit dem Filter in die vorher benützte, getrocknete Porzellanschale gelegt, in welcher ebenfalls Niederschlag geblieben ist. Das Ganze wird unter stetem Umrühren nach Zusatz von 200 ccm 95%igen Alkohols gekocht, wobei das Filtrierpapier stückweise entfernt wird. Schließlich läßt man erkalten, filtriert und füllt das Filtrat mit Alkohol von 95% auf 200 ccm wieder auf. Nach Zusatz von 4 ccm Salzsäure ist die Farblösung fertig. Die Schnitte kommen auf etwa 20—60 Minuten hinein, werden im Alkohol (95%) abgewaschen und mit Xylol aufgehellt. Die Schnitte können auch länger (einige Stunden) in der Farbe bleiben, müssen aber dann unter Umständen in Alkohol-Salzsäure differenziert werden. Nach der Färbung erscheinen die elastischen Fasern dunkelblau, fast schwarz auf ganz hellem Grunde. Die Kerne sind bei kurzer Färbung nicht tingiert, sie können vor oder nach der Färbung durch Karmin gefärbt werden; hierbei kann Differenzierung in HCl-Alkohol angewandt werden. Bei der Behandlung des Fuchsins in der angegebenen Weise entsteht nach Weigert ein neuer Farbstoff, der in Wasser unlöslich, in Alkohol aber löslich ist.

462. Hart färbt Schnitte mit Orthschem Karmin (in konzentrierter Lösung von Lithionkarbonat werden durch Kochen 2,5—5% Karmin gelöst) und behandelt sie dann nach Weigertscher Elastinfärbung mit etwas mehr Salzsäurezusatz. Während sich die elastischen Fasern färben, wird das überschüssige Karmin durch die Säure extrahiert. Nachbehandlung mit 90%igem Alkohol usw. Kerne erscheinen rot, elastische Fasern dunkelblau.

463. Die **Orzeinmethode** (Taenzer) nach Unna (91):

Orzein	0,1
95%iger Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0

wird zur Hälfte verdünnt (eventuell das Mischungsverhältnis ausprobieren, bei welchem in gegebenem Fall die elastischen Fasern sich gesättigt dunkelbraun von dem weit schwächer gefärbten übrigen Gewebe abheben) mit

Acid mur. . . .	0,1
95%igem Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0;

darin färben 24 Stunden (am besten nicht aufgeklebte Schnitte), dann kurz (ca. $^1/_2$ Minute) differenzieren in an-

gesäuertem, 95%igem Alkohol (eventuell Kernfärbung mit Hämatoxylin oder Methylenblau), absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

464. Pranther gibt etwas abweichende Rezepte an: a) Orzein D (Grübler) 0,1, offiz. Salpetersäure 2, 70%iger Alkohol 100; Färbezeit 8—24 Stunden, b) Orzein 1, offiz. Salpetersäure 5, 70%iger Alkohol 100; Färbezeit $^1/_2$ bis 1 Stunde.

465. Sehr einfach verfährt Benda. Es wird eine gesättigte Stammlösung von Orzein in 90%igem Alkohol hergestellt. Diese Lösung muß ein paar Wochen am Lichte bei Luftzutritt reifen. Von dieser unfiltrierten Lösung wird soviel in eine 1%ige Salzsäurelösung in 70%igen Alkohol getropft, bis die Mischung weinrot wird. In dieser Mischung färbt man die Schnitte 12—24 Stunden. Bei eventueller Überfärbung Behandlung der Schnitte mit 70%igem Alkohol mit 1% Salzsäure.

466. Für die Färbung elastischer Fasern empfiehlt Röthig Kresofuchsin. Man nimmt z. B. die folgende Lösung: Kresofuchsin (Spiegel) 0,2, offiz. Salpeter- oder Salzsäure 3 ccm, 70%igen Alkohol 100. Färbezeit 12 bis 24 Stunden.

467. Das bequemste Objekt, um die Entwicklung der elastischen Fasern zu verfolgen, sind die Eihäute.

468. Das **areoläre Gewebe** wird am besten dem großen Netze, z. B. eines Kaninchens, entnommen und wie fibrilläres Bindegewebe behandelt. Es empfiehlt sich, kleinere Stücke des Netzes zu versilbern (siehe § 378) und alsdann mit Karmin (Pikrokarmin) zu färben. Dabei sieht man, wie die Endothelzellen dicke Maschen bildende Bindegewebsbündel bekleiden.

469. Das **retikuläre (adenoide) Gewebe** studiert man am besten in Lymphdrüsen und ähnlich gebauten Organen.

470. Um die Elemente des **Koriums** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem eben getöteten Hunde wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Es bildet sich dann eine kleine Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit einer krummen Scheere entnommenes Fetzchen auf dem Objektträger gewaschen und

unter der Lupe zerfasert, eventuell durch Zusatz eines Tropfens Pikrokarmin auf dem Objektträger gefärbt. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gut fixierte Bindegewebszellen, eventuell Fettzellen. An den Bindegewebsfasern sieht man oft spiralig verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten wie die Bindegewebsfibrillen. Vergl. Kapitel Haut.

471. Ewald und Kühne (74) unterwerfen die folgenden Gewebe der **Trypsinverdauung,** z. B. mit einem schwach alkalischen Glyzerinpankreasextrakt, bei der Temperatur von 35° C.

1. Sehnen zerfallen in einzelne Faszikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.

2. Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.

3. Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt.

4. Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.

5. Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.

6. Elastisches Gewebe wird gelöst.

7. Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.

8. Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.

9. Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.

10. Von den Epithelien der Schleimhäute bleiben nur die Kerne zurück.

11. Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighii heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

Das Trypsin ist also ein Mittel, um aus jedem tierischen Gewebe kollagene Fibrillen und Netze, Hornsubstanz und Kerne zu isolieren.

472. Untersuchungen von F. Mall (91 und 96) verdanken wir zahlreiche Angaben über das **Verhalten** des Bindegewebes **gegen Reagenzien** und greifen davon folgendes heraus:

Die elastischen Fasern bleiben in Essigsäure (auch beim Kochen in 20%iger) unverändert, sie werden nur brüchig;

in konzentrierter Salzsäure gekocht, zerfällt die elastische Faser sehr rasch; in 10%iger bleibt sie bei gewöhnlicher Temperatur unverändert, in 50%iger löst sie sich in 7 Tagen, in konzentrierter schon am zweiten Tage; zuerst löst sich das Innere der Faser, dann die »Fasermembran«. Zur Darstellung der letzteren kocht man die elastischen Fasern ein paarmal in konzentrierter Salzsäure auf und gießt das Ganze in kaltes Wasser aus. Manchmal sieht man an den Membranen eine longitudinale Strichelung, welche auf einen fibrillären Bau hindeutet. Konzentrierte Kalilauge zerstört die Faser in wenigen Tagen, schwache Lösungen nur sehr langsam; eine 1%ige braucht dazu Monate, eine 2%ige einen Monat, eine 5%ige 3 Tage, 10%ige einen Tag, 20—40%ige Stunden. Eine schwache Kalilauge löst, auch kochend angewandt, die elastischen Fasern nicht auf; sie werden darin auch nicht brüchig. In 5- oder 10%iger Kalilauge gekocht, isolieren sich die »Fasermembranen«, ebenso in 20%iger kalter Lösung in 1 bis 2 Tagen. Durch Pepsin zerfällt der Inhalt der Faser, die »Membranen« bleiben übrig.

Trypsin löst die elastischen Fasern rasch auf, nicht aber das Sehnen- und das retikulierte Gewebe, welch letztere tagelang darin unverändert bleiben. Die Fäulnis zerstört das Lig. nuchae in wenigen Tagen; zuerst zerfällt das Innere der Faser, dann die »Fasermembranen«.

Um den Faserinhalt und die »Fasermembranen« zu demonstrieren, empfiehlt sich eine Färbung mit Magentarot (ein Körnchen Magentarot auf 50 g Glyzerin + 50 g Wasser). Der Inhalt färbt sich rot, die Faserscheide bleibt farblos.

Wird eine Sehne gekocht, so wird sie kürzer. Fixiert man die Sehne vor dem Kochen, so verkürzt sie sich nicht. Das adenoide Gewebe schrumpft beim Kochen, quillt nach kurzer Zeit und löst sich später auf. Sehnengewebe und adenoides Gewebe schrumpfen schon bei 72° C. Behandelt man sie aber eine kurze Zeit mit $^1/_2$%iger Osmiumsäure, so tritt die Schrumpfung erst bei 95° C ein. Sind das Retikulum oder die Sehne durch Erwärmung geschrumpft, so lassen sie sich sehr leicht mit Pankreatin (Trypsin) verdauen und werden durch Fäulnis sehr leicht zerstört.

In konzentrierter und in einer Essigsäure von unter $^1/_{20}$% quellen die Sehnenfasern nicht. In Säuren zwischen $^1/_2$ und 25% quellen sie hingegen auf; in 25%iger werden sie nach 24 Stunden gelöst. Ameisensäure in stärkster Verdünnung, $^1/_{500}$%ig z. B, bringt Sehnenfasern in kurzer Zeit zum Quellen. Zachariadés. In Salzsäure von 0,01% bis 6% quellen die Sehnenfasern auf. In einer 6- bis 25%igen Lösung bleiben sie eine Zeitlang ganz unverändert, und erst in konzentrierter Säure lösen sie sich. 10%ige Salpetersäure verändert das Volumen der Sehnenfaser kaum; $^1/_{50}$%ige wirkt am stärksten quellend. Zachariadés. Das retiku-

lierte Gewebe quillt in Salzsäure bis 3%, bleibt unverändert zwischen 3—10% und löst sich nach 24 Stunden in 25%iger Säure und in höheren Konzentrationen derselben. Nach Behandlung mit verdünnter Säure löst sich beim Kochen die Sehne viel rascher auf als das retikuläre Gewebe.

Im natürlichen Magensaft des Hundes lösen sich die Sehnen nicht schneller als das elastische Gewebe auf; im künstlichen dagegen löst sich zuerst die Sehne, dann das retikulierte Gewebe, dann die elastische Faser auf (vgl. über fraktionierte Verdauung, Spalteholz, 03). Pankreatin greift weder die Sehne, noch das retikulierte Gewebe an. Werden beide gekocht, so werden sie leicht in Pankreatin verdaut.

Die Fäulnis zerstört weder die Sehne, noch das Retikulum, wenn sie der Leiche entnommen worden sind. In der Leiche, und namentlich bei höherer Temperatur (37°), zerfallen beide Gewebe in kurzer Zeit.

473. Höhl (97) empfiehlt, mit Wasser aufgeklebte Schnitte von fixierten Objekten zu verdauen. Nach Entfernung des Paraffins mit Xylol kommen die Objektträger in Alk. abs. und dann (da **Pankreatin** exakt nur bei vollständig entfettetem Präparat wirkt) in ein gut schließendes Gefäß mit Benzin 24—72 Stunden bei 37° C, dann in abs., 90, 70%igen Alkohol und dann 10—20 Minuten in fließendes Wasser, dann in die Verdauungsflüssigkeit, 100 ccm 1/3%iger Sodalösung und eine Messerspitze pancreatinum siccum (depuratum) Grübler. Darin bleiben sie bei 20—37° C 24—10 Stunden. Nach der Verdauung werden die Präparate in fließendem Wasser 10—20 Minuten vorsichtig ausgewaschen. Dann kommen die Objektträger zur Färbung in eine 1/2%ige wässerige Lösung von Ferridammonium tartaricum für 1—24 Stunden, dann kurz in Wasser und 3—24 Stunden in eine 1/2%ige wässerige (gereifte) Hämatoxylinlösung. Sind nach Abspülen des Farbstoffes die Bälkchen des Retikulums noch nicht tief schwarz, so kommt das Präparat noch auf 20—30 Minuten in die Eisensalzlösung (die jedesmal frisch zubereitet werden muß) zurück.

474. Björkenheim schildert die Methode der Verdauung aufgeklebter Schnitte sehr eingehend: Die Objektträger müssen rein und fettfrei sein, damit die Schnitte bei der Verdauung sich nicht loslösen. 3—4tägige Aufbewahrung der Objektträger in einer Seifenlösung ist das einfachste und zugleich das sicherste Mittel. Die mit Wasser regelrecht aufgeklebten Schnitte werden von Paraffin befreit, indem man sie bei Zimmertemperatur a) 3—4 Stunden in Xylol, b) absol. Alkohol, c) in Benzin

bringt, um das Fett gleichzeitig zu entfernen; die Verdauung geht leichter vor sich, wenn die Schnitte längere Zeit, 6—7 Tage, in Benzin gelegen haben, d) absol. Alkohol, e) 96%igem Alkohol, f) einige Minuten Spülen mit dest. Wasser, g) Barytwasser 24 Stunden, um die Schnitte etwas lockerer zu machen und dadurch die Verdauung zu begünstigen, Kolster 87, h) Abspülen der Schnitte in fließendem Brunnenwasser. i) Nun kommen die Schnitte in die Verdauungsflüssigkeit, welche man in der Weise herstellt, daß man zu 40—45 ccm einer 1%igen Sodalösung eine Messerspitze **pancreatinum siccum** Grübler zusetzt; man läßt diese Flüssigkeit bei 35—37° C 6 bis 24 Stunden und länger einwirken, k) spült die Schnitte vorsichtig in dest. Wasser aus, l) färbt mit Hämatoxylin von Mallory § 261, m) spült abermals mit dest. Wasser vorsichtig, damit die Schnitte nicht abgehen, aus, und n) überführt durch Alkohol usw. in Kanadabalsam. Die Zeit, wie lange die Schnitte in der Verdauungsflüssigkeit liegen sollen, läßt sich von vornherein nicht bestimmen; junge Uteri brauchen etwa 6 Stunden, Vaginen von Greisinnen 3 Tage bis das Reticulum frei liegt; verdaut man längere Zeit, als es nötig ist, so löst sich das Bindegewebe vom Objektträger ab. Das Abspülen mit Wasser nach der Verdauung muß behutsam erfolgen. Das Optimum der Schnittdicke ist 6—8 μ. Vorbehandlung des Materials: Fixierung in Alkohol oder Sublimat, nicht aber in Formol, Chromsäure und Osmiumsäure.

475. Von außerordentlich großem Wert für die **Verdauung** zarter Schnitte ist die folgende Modifikation von C. M. Jackson: »Ich fand auch, daß es möglich ist, die **Paraffinschnitte** (5 μ bis 10 μ Dicke), mögen sie frei schwimmen oder auf dem Objektträger festgeklebt sein, erfolgreich zu verdauen, ohne das Paraffin vorher zu entfernen; nur muß man die Trypsinlösung etwas länger (1—4 Tage) einwirken lassen. Die verdauten Schnitte werden (im Paraffin) mit Eisenhämatoxylin gefärbt (1 Tag im Eisenalaun, 1 Tag im Hämatoxylin). Dann kann man das Paraffin mit Xylol entfernen, oder man kann auch die Schnitte nach gründlicher Trocknung direkt in Balsam einschließen, ohne das Paraffin vorher aufzulösen. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß selbst die zartesten Fasern, die sonst beim Waschen leicht verloren gehen, im Paraffin an ihrem Platze festgehalten werden. Allerdings sind die Präparate nicht so sauber wie die mit

der gewöhnlichen Methode hergestellten, doch wird meiner Meinung nach dieser Nachteil durch die Vorteile bedeutend überwogen.« Vgl. Spalteholz (03).

476. Flint verdaut Stücke verschiedener Organe in folgender Weise: Die Organe werden in van Gehuchtenscher Flüssigkeit fixiert, in nicht über 3 mm große Stücke zerschnitten und mit Äther im Soxlethschen Apparat entfettet. Die Entfettung dauert etwa eine Woche. Die Präparate werden durch allmählich steigenden Alkohol bis zum absoluten übergeführt, während 24 Stunden ausgewaschen und mit Grüblers Pankreatin im Thermostaten verdaut. Pankreatinlösung wird alle 48 Stunden erneuert. Die Verdauung wird solange fortgesetzt, bis reines Bindegewebe übrig bleibt, was bei verschiedenen Organen verschiedene Zeit in Anspruch nimmt. Die ganze Prozedur dauert einen vollen Monat.

477. Vor Fäulnis schützt man die Pankreatinlösungen durch geringen Zusatz von Chloroform, Thymol, Toluol oder Äther.

478. Junge kollagene Fibrillen leisten dem Trypsin wenig Widerstand und färben sich schlecht nach Bielschowsky. (Golowinski 07.)

479. Die Vorbehandlung des Bindegewebes hat einen wesentlichen **Einfluß** auf die Resultate der Verdauung desselben. So sind z. B. in Osmiumsäure fixierte elastische Fasern in Pepsin unlöslich. Mit sehr schwachen Chromsäurelösungen ($^1/_{3000}$) im Lichte behandelte elastische Fasern sind in Trypsin unveränderlich, werden dagegen verdaut, wenn sie im Dunkeln ebenso fixiert waren. Dasselbe gilt für kollagene Gewebe. (Ewald 90.)

480. Man hat Gelegenheit genug, **Fettzellen** (Fett ist löslich in Äther, heißem Alkohol, Benzol und Chloroform) in frischem Zustande an überlebenden Gewebsstücken zu untersuchen, beispielsweise an den Mesenterien kleinerer Tiere in einer Schicht. Man trifft unter besonderen Umständen auch Margarinkristalle in Fettzellen an.

481. Das **Fett** ist so glänzend und die Fettzellen sind so groß, daß die feineren Strukturverhältnisse derselben am frischen Material unmöglich erkannt werden können. Um sich über den Bau einer Fettzelle zu orientieren, ist die im § 470 angegebene subepidermoidale Silbernitratlösung-Injektion zu empfehlen. An Zupfpräparaten der Oedemkugel erhält man konstant isolierte Fettzellen, und diese zeigen einen deutlichen Fettropfen, umgeben (im optischen Durch-

schnitt) von einem Protoplasmaring, der an einem Zellenpol sich verbreitert und den Kern der Fettzelle einschließt.

482. Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer $^1/_2$ bis 1%igen Osmiumsäure, so zeigen die Fettzellen eine schwarze Färbung infolge der Anwesenheit von Oleinfett, welches allein durch Osmiumsäure direkt geschwärzt wird, weil es Osmium reduziert; die übrigen reinen Fette, ohne Oleinfett als Beimischung, werden durch Osmiumsäure fixiert und nur gebräunt, in Alkohol aber erst nachträglich geschwärzt. Altmann (94). Starke. Die in Osmiumsäure fixierten Stücke eines Fettläppchens werden mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in Glyzerin (siehe § 209) übergeführt, das Deckgläschen wird umrandet, und so ein dauerndes Präparat angefertigt.

Um **Fett mit Osmiumsäure** nachzuweisen, übertrage man die mit Osmiumsäure behandelten Präparate nicht direkt in Alkohol, weil sie dadurch im ganzen geschwärzt werden. Am besten verfahre man so: Man behandle mit 1—2%iger Osmiumsäurelösung im Dunkeln, wasche mit destilliertem Wasser aus und übertrage allmählich in Alkohol, worin erst die intensive Färbung der Fettropfen zum Vorschein kommt.

Das mit Osmiumsäure, resp. Osmiumsäuregemischen, schwarz gewordene Fett löst sich in Terpentin, Xylol, Toluol, Äther und Kreosot, nicht aber in Nelkenöl, Bergamottöl und Chloroform. (Bergamottöl und Chloroform lösen osmiertes Fett der Nebenniere, H. Rabl [91], aus der Gegend der Thymus und das Fett der Winterschlafdrüse, Schaffer [96]).

Die Löslichkeit des Fettes in mit Osmiumsäure allein behandelten Präparaten ist eine viel geringere als in mit Osmiumgemischen fixierten (Flemming, 89a und 89b). — Das mit Müllerscher Flüssigkeit behandelte Fett schwärzt sich mit Osmiumsäure ebenfalls. — Über Fettosmieren nach verschiedener Vorbehandlung auf Schnitten siehe Unna (98).

Fetthaltige Gewebsteile werden also zweckmäßig nicht durch Xylol etc., sondern durch Chloroform in Paraffin übergeführt, wenn man mit geschwärztem Fett gefüllte Zellen erhalten will.

Osmiertes Fett kann man entfärben, entosmieren, wenn man dasselbe z. B. mit naszierendem Chlor behandelt. Vgl. Bleichen der Pigmente. § 363 u. ff.

Vgl. auch die Färbung von Azoulay in § 685.

483. L. Daddi hat neuerdings **Sudan III** als Färbungsmittel für Fett empfohlen. Dasselbe kann in doppelter Weise angewandt werden: 1. entweder füttert man die Tiere mehrere Tage lang, wobei sich das ganze Fett rot färbt, oder 2. man färbt frische oder fixierte (in Medien, welche das Fett nicht lösen, z. B. in Müllerscher Flüssigkeit) Stücke und Schnitte. Es wird eine gesättigte alkoholische Sudanlösung angewendet, welche in 5—10 Minuten färbt. Man wäscht in Spiritus aus und schließt in Glyzerin ein. Sudan III wird gegenwärtig allgemein gebraucht und hat vielfach die Osmiumsäure verdrängt.

484. W. Rosenthal empfiehlt folgende Methode:

Etwa 5 mm dicke Scheiben werden in einem Gemisch von 5 ccm Formol und 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung 24 Stunden lang fixiert, kurze Zeit mit fließendem Wasser gewaschen und auf dem Gefriermikrotom möglichst dünn geschnitten. Die Schnitte werden im Wasser gewaschen, in 50%igen Spiritus auf kurze Zeit übertragen, um in Sudan III auf 10′ (höchstens 30′!) zu kommen (Sudan III-Lösung in 70—80%igem Alkohol); die im Sudan III gefärbten Schnitte werden flüchtig (Sekunden!) in 50%igem Alkohol gewaschen, in Wasser übertragen und in Glyzerin, resp. Glyzerin-Leim, eingeschlossen. — Eine Färbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig.

Statt mit Formol-Pikrinsäuremischung kann man auch mit Formol allein fixieren und dann auf dem Gefriermikrotom schneiden. Sudan III färbt auch oleinfreies Neutralfett, was Osmiumsäure nicht tut. Lecithin und Myelin färben sich schwach rosa. **Scharlach R.** (Fettponceau) verhält sich dem Fett gegenüber wie Sudan III, d. h. wird in Fetten gelöst (Herxheimer). Man nehme eine gesättigte Lösung in 80 Teilen absoluten Alkohols, zu dem 20 Teile einer 5%igen Natronlauge zugesetzt worden sind. Eine Durchfärbung im Stück ist zulässig. Lindemann W.

485. Untersucht man frische Fettzellen, die mit einem Deckglase bedeckt sind, in Wasser oder indifferenter Flüssigkeit, so gewahrt man, daß einige oder viele Fettzellen (die Membranen derselben) zerplatzen und größere oder kleinere Fetttropfen frei werden und oft konfluieren. Man kann die Prozedur dadurch beschleunigen, daß man auf das Deckgläschen (etwa mit einer Nadel) drückt.

486. Die Fettablagerungen in der Zelle bestehen nicht aus gleichartigen Stoffen, sondern aus verschiedenen in der Peripherie und im Zentrum. Solger (93).

5. Kapitel. Knorpel.

487. Der **Knorpel** kann an vielen Stellen, namentlich der hyaline, schon **frisch** untersucht werden. Man nimmt zu diesem Zweck entweder den knorpeligen Teil des Hypo- oder Episternums, oder aus der Skapula eines Frosches, oder auch des Processus xiphoideus kleiner Säuger. Solche dünne Knorpellamellen können, mit einem Stück Leinwand von Weichteilen gesäubert, in indifferenter Flüssigkeit (siehe § 11 ff.) untersucht werden. Man kann auf diese Weise die Knorpelgrundsubstanz, die Kapseln und die Zellen darin, welche die Kapseln ganz ausfüllen, mit Leichtigkeit sehen.

488. Aber auch große Stücke Knorpel sind der Untersuchung frisch zugängig. Die Konsistenz des Knorpels ist nämlich eine derartige, daß man trocken oder mit einem mit indifferenter Flüssigkeit benetzten Rasiermesser dünne **Schnitte** anfertigen und in derselben Flüssigkeit sich ansehen kann.

489. Auf dieselbe Weise können frische Netzknorpelstücke mit dem Rasiermesser geschnitten (siehe § 6) oder, wenn sehr dünn, wie die Ränder der Ohrmuschel einer Maus, nach der Entfernung der beiden Hautlamellen ungeschnitten untersucht werden.

490. Die hyaline Knorpelgrundsubstanz mit Sublimat fixiert und nachträglich mit Safranin tingiert, zeigt eine prägnante Orangefärbung. Sie ist **basophil** und läßt sich besonders gut mit mit Salzsäure angesäuerter, 1—5 Tropfen einer 1 %igen Salzsäurelösung auf 100 ccm $^1/_{1000}$ bis $^1/_{10000}$ Methylenblaulösung färben. Man fixiert die Farbe mit 3 %igem Ferricyankalium oder 5 %igem Ammoniummolybdat.

491. Hansen (98b, 05) beschreibt im hyalinen Knorpel der Wirbeltiere feine Bindegewebsfibrillen in der hyalinen Grundsubstanz. Die Basophilie des Knorpels rührt von der im **Chondromucoid** vorhandenen **Chondroitinschwefelsäure** her. Das Chondromucoid umhüllt die Fibrillen so, daß sie unsichtbar, maskiert sind. Entfernt man die Chondroitinschwefelsäure aus einem unfixierten oder besser fixierten Knorpelschnitte durch sehr vorsichtige Be-

handlung mit Alkalien, so läßt sich mit Hansens Bindegewebsfärbung (siehe § 454) alles Kollagen (Bindegewebsfibrillen) im Knorpel färben; es wird demaskiert.

492. In fixierten Schnitten, besonders in Formol oder Formol-Alkohol, **löst** sich das Chondromucoid in Barytwasser, Barytwasser und 10%ige Kochsalzlösung zu gleichen Volumteilen, in Kalkwasser und besonders gut in dünner Kalilauge, welche, wenn die Schnitte gut und lange fixierten Objekten entnommen sind, nicht besonders destruierend einwirkt. Hansen (05).

493. Von Weichteilen gesäuberte hyaline Knorpelscheiben, z. B. der Patella oder den Kondylen entnommen, lasse man 3 bis 7 Tage in einer mittelstarken Lösung von Kalium hypermanganicum oder in einer 10%igen Kochsalzlösung mazerieren. Die erstere wechsle man 4—6 mal täglich. Die hyaline Grundsubstanz zerfällt dann in sehr feine Fibrillen, welche den Bindegewebsfibrillen gleichen (Tillmanns).

494. Knorpel der Kephalopoden zeigt **verzweigte Knorpelzellen,** welche miteinander anastomosieren. Nach Chatin kommen verzweigte Knorpelzellen in der Sclera von Gecko, Lacerta und Cameleon, sowie in der Cartilago cricoidea des Dachses vor.

495. Um **Netzknorpel** zu untersuchen (Ohrmuschel, Epiglottis etc.), fertige man sich, nachdem man ihn mit Alkohol fixiert hat, dünne Schnitte, welche nun beliebig gefärbt werden können, z. B. Borax-Karmin, Safranin etc.

An solchen Präparaten aber, namentlich in Kanadabalsam, sieht man die feinen und dichten elastischen Netze kaum. Um diese darzustellen, kann man die Schnitte aus dem Wasser in eine sehr dünne Jodlösung einlegen, welche in kurzer Zeit die elastischen Netze braun färbt.

Bei Jodzusatz achte man auf das event. Vorhandensein des Glykogens in den Knorpelzellen (es kommt auch im hyalinen Knorpel vor), welches mahagonibraun erscheint (vgl. § 797). Diese Farbe schwindet beim Erwärmen.

496. Will man Dauerpräparate anfertigen, so tingiere man dünne Netzknorpelschnitte nach dem Weigertschen Verfahren (siehe § 461) oder nach der Orzeïnmethode (siehe § 463).

Mit Pikrokarmin färben sich elastische Netze gelb, die Kerne der Knorpelzellen rot.

497. Tingiert man dünne Schnitte mit einer wässerigen Fuchsinlösung, wäscht dann dieselben längere Zeit in

Alkohol aus und überträgt sie nach den allgemeinen Regeln in Kanadabalsam, so erscheinen die Netze intensiv rot, das übrige, außer den Kernen, farblos.

498. Knorpel bei älteren Individuen, namentlich Rippenknorpel, aber auch Larynxknorpel etc. zeigen **Kalkeinlagerungen** und müssen daher, nachdem sie fixiert worden sind, entkalkt werden (siehe § 504 ff.).

499. Rippenknorpel des Erwachsenen und embryonale Knorpel bieten häufig Material für das Studium von mehreren **Tochterknorpelzellen** in einer Kapsel.

500. Die knorpelhaltigen Organe lassen sich nicht gut auf dem Objektträger, namentlich wenn die Schnitte etwas dick sind, aufkleben, weil sie sich beim Erhitzen werfen.

501. Der **bindegewebige Knorpel** wird aus der Zwischenwirbelscheibe etc. entnommen und entweder mit Osmiumsäure, oder noch besser, mit Pikrinsäure fixiert und mit Pikrokarmin oder nach Hansens Methode (siehe § 454) gefärbt.

502. Um **embryonale Knorpelskeletteile** oder ganze Embryonen als Übersichtsbilder zu montieren, verfährt Lundvall, wie folgt: a) Fixierung in 10%igem Formol, 48 Stunden und darüber, b) Behandlung mit 95%igem Spiritus, eben solange, c) Färbung in Toluidinblau bei 40° C (man löse 0,25 g Toluidin in 100 ccm einer ½%igen Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol, füge nach erfolgter Lösung noch 0,5 ccm Salzsäure hinzu und filtriere nach 24 Stunden), d) Entfärbung in 0,25%iger oft zu wechselnder Salzsäure in 70%igem Spiritus bei 40° C, e) Entsäuern in oft zu wechselndem 95%igem Alkohol, f) Abs. Alk. etc. Statt Xylol nehme man für diesen Zweck Benzol.

503. Färbung mit Methylenblau, Ausziehen des überschüssigen Farbstoffes mit verdünnter Salzsäure, Entwässern und Einlegen in eine Mischung von Benzol-Schwefelwasserstoff geben dieselben Resultate. Lenhossék und Bokay färben mit Bismarckbraun im Stück, ziehen den Farbstoff mit 96%igem Alkohol aus und hellen in Zedernholzöl auf.

Ältere Literatur zu Kap. 5: Flesch 80, neue: Hansen 05.

6. Kapitel. **Knochen und Zähne.**

504. In der organischen Grundmasse des Knochens sind verschiedene anorganische Substanzen und namentlich Kalksalze enthalten, welche dem ganzen Knochen die

Festigkeit verleihen. Will man den Knochen schnittfähig machen, so muß man diese Kalksalze entfernen, **entkalken.** Man behandelt zu diesem Zweck den Knochen, auch Zähne mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden dieser Säuren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser, resp. Spiritus, löslich sind. Auf diesem Prinzip beruht die Entkalkung.

505. Unter den **Entkalkungsflüssigkeiten** steht nach P. Ziegler (99) an erster Stelle die **schweflige Säure,** deren Wirkung darauf beruht, daß das unlösliche Trikalziumphosphat, das neben dem kohlensauren Kalk die Hauptmasse der anorganischen Bestandteile des Knochens darstellt, unter dem Einflusse der schwefligen Säure in Monokalziumphosphat, welches leicht löslich ist, umgewandelt wird.

Nachdem bei kleineren Knochen eine Fixation vorausgegangen ist, — bei größeren Knochen, da die gewöhnlichen Fixierungsmittel nicht rasch genug in die Tiefe eindringen, fixiere man am zweckmäßigsten mit Formol, — verbringt sie P. Ziegler auf kürzere oder längere Zeit in die gesättigte wässerige schweflige Säure mit ca. 5 % Säuregehalt. Es wird dann ebenso lange mit fließendem Wasser gewaschen, in allmählich steigendem Alkohol nachbehandelt und in Zelloidin geschnitten.

Dieselbe Säurelösung entkalkt den Humerus eines ausgewachsenen Meerschweinchens in 1—2 Tagen und alteriert dabei die Struktur der Weichteile nicht, wie die im folgenden erwähnten Verfahren; die Entkalkung erfolgt vollständig gleichmäßig, und die Färbbarkeit mit allen Farben ist eine vorzügliche. Tritonenextremitäten bleiben nur 2—3 Stunden in der Säure, größere menschliche Knochen 8 Tage. — Kleinere, passend fixierte und nicht länger wie 2—5 Stunden entkalkte Knochen zeigen in ihren Weichteilen die feinsten Zellstrukturen gut erhalten.

Von weiteren Entkalkungsflüssigkeiten (siehe Haug, 91 a, und Schaffer, 03) nennen wir folgende:

506. Salzsäure (offizinelle) $^1/_2$—1 %, die oft zu wechseln ist; sie wird auf vorher fixierte Objekte angewendet. Offizinelle Salzsäure hat 25 % HCl, rohe 30—33 %.

507. Eine 1 %ige Salzsäurelösung zu gleichen Teilen mit einer 1 %igen Chromsäurelösung.

508. Für kleinere Objekte: konzentrierte **Pikrinsäure**lösung und **Pikrinsalpetersäure,** nicht aber Pikrinschwefelsäure wegen der Entstehung des schwerlöslichen Gipses.

509. Salpetersäure (gemeint ist Acidum nitricum crudum mit 61 % Säuregehalt und von 1,40 spezifischen Gewichts); die 2—15 %ige Säure ist die rascheste und schonendste Entkalkungsflüssigkeit; nach der Entkalkung behandelt man die Stücke mit 5 % Alaunlösung und wäscht dann mit Wasser aus. Schaffer (03). Auch alkoholische Lösungen, gewöhnlich in 70 % Spiritus, werden gebraucht; in ihnen können auch in Zelloidin eingebettete Stücke entkalkt werden. (Schaffer (03). Auch die erwähnte Salpetersäure 70, Formol 50, Wasser 1000 wird auf fixierte Objekte mit guten Resultaten angewandt. Alexander, siehe Kapitel Ohr.

510. Trichloressigsäure 5 %ig. Sie entkalkt in relativ kurzer Zeit und fixiert gleichzeitig; Dauer der Einwirkung 12 Stunden bis 2 Tage; darauf starker Alkohol: in Wasser quillt Bindegewebe nach dieser Vorbehandlung auf. (Holmgren.)

511. Salzsäure darf wohl nie auf ganz frische Objekte angewandt werden, sondern nur **auf** vorher **fixierte**; aber auch diese, wenn sie groß sind und längere Zeit in der Entkalkungsflüssigkeit liegen, verändern sich sehr stark. Besser entkalkend und fixierend zugleich wirkt Salzsäure-Chromsäure-Gemisch. Gute Resultate erzielt man mit Pikrin- und Pikrinsalpetersäure, aber diese Flüssigkeiten dringen nur sehr wenig in die Tiefe, und die Entkalkung geht außerordentlich langsam von statten. Die Salpetersäure (namentlich schwächere Lösungen derselben auf kleinere Objekte angewandt, die vorher gut fixiert waren) liefert ebenfalls sehr Gutes. Statt des Wassers wird Kochsalzlösung als Vehikel empfohlen, durch welche die quellende Wirkung der Säuren bei passender Konzentration aufgehoben werden kann (siehe § 512). Bei allen diesen Flüssigkeiten gilt die Regel, möglichst viel Flüssigkeit zu nehmen und diese möglichst oft zu wechseln.

Die **Zeit der Entkalkung** richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, Konzentration derselben, Temperatur usw., dauert aber immerhin ziemlich geraume Zeit, mitunter wochenlang. Der Knochen ist dann entkalkt, wenn er so weich geworden ist, daß man ihn schneiden kann. Dies muß man durch Probieren feststellen, indem

man versucht, Schnitte darzustellen oder mit einer feinen Nadel in den Knochen einzustechen.

Die in einer dieser vier Flüssigkeiten entkalkten Stücke werden längere Zeit ausgewaschen, 24 Stunden und darüber, bis sie die Säuren vollkommen dem Wasser abgegeben haben und farblos geworden sind; sie kommen dann, wie die fixierten Stücke, in Spiritus von allmählich steigender Konzentration usw.

512. Alle diese Flüssigkeiten bringen die Grundsubstanz des Knochens mehr oder weniger zum Quellen, und so kommen die meisten Primitivröhrchen in der Regel zum Verschluß; die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen geht ebenfalls verloren. Um auch diese zu erhalten, hat v. Ebner (75) eine wässerige **Kochsalz-Salzsäurelösung** vorgeschlagen, die folgendermaßen zusammengesetzt ist:

Eine kaltgesättigte Kochsalzlösung wird mit zwei Volumina Wasser verdünnt und 2% Salzsäure (für Zähne 10 bis 20%) zugesetzt. Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, wird täglich etwas Salzsäure zugesetzt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sie werden dann mit zur Hälfte gesättigter wässeriger Kochsalzlösung gewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch allmähliches spurweises Zusetzen von Salmiakgeist nach und nach gehoben wird, und zwar so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Der Knochen kann geschnitten werden. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate. Es empfiehlt sich, die gut gewässerten dünnen Schnitte mit Gentianaviolett (§ 440) zu färben; statt der dort angegebenen Entfärbungsflüssigkeit nehme man 2 Teile Anilinöl auf 3 Teile Xylol (Beneke). Die Grundsubstanzfibrillen von v. Ebner und die Sharpeyschen Fasern färben sich dabei.

513. Schnitte nach Bielschowsky-Maresch behandelt, zeigen die Fibrillen ausgezeichnet. (H. v. Baeyer, Studnička.)

514. Will man **Kalk nachweisen,** so behandle man unentkalkte oder nicht ganz entkalkte Schnitte etwa 5 Minuten mit Silbernitrat, spüle mit dest. Wasser aus und übertrage sie in eine dünne Pyrogallussäurelösung. In dieser tritt augenblicklich die Silberfärbung der verkalkten Stellen dunkel hervor. Aber nicht nur Silber, sondern fast alle Metalle haben Affinität zu verkalkten Geweben, so kann

man Kupferazetat mit Schwefelammonium oder Eisenchlorid mit Ferrocyankalium mit demselben Erfolg wie bei Silberreaktion kombinieren.

515. Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder für Felsenbeine ganz kleiner Tiere kann man sich auch der Flemmingschen Lösung bedienen und läßt diese 1—2 Tage und länger einwirken.

516. Für sehr kleine Objekte, die sehr wenig Kalk enthalten, genügt aber schon der Aufenthalt derselben in einer schwachen Chromsäure, wie sie zum Fixieren gebraucht wird, resp. in der Müllerschen Lösung, welche auch etwas freie Chromsäure zu enthalten pflegt.

517. Man gewöhne sich, die Entkalkung erst an fixierten Stücken vorzunehmen; wenn auch die Zeit, die zur Entkalkung solcher notwendig ist, eine viel längere ist, so werden doch die Weichteile viel besser geschont.

518. In den Angaben über **Phlorogluzin** (Haug, 91 b) folgen wir v. Kahlden (95). Das Phlorogluzin wirkt nicht selbst entkalkend, schützt vielmehr die Gewebe vor der gleichzeitig anzuwendenden Säure; man kann daher letztere in so starker Konzentration einwirken lassen, daß die Entkalkung bei kleinen Knochen nach einer halben Stunde, bei härterem Knochenmaterial nach wenigen Stunden vollendet ist. Das Präparat ist deshalb während der Anwendung der Methode fortwährend zu kontrollieren. — Herstellung der Lösung: Phlorogluzin 1,0 wird in reiner, nichtrauchender Salpetersäure 10,0 unter vorsichtigem Erwärmen gelöst, am besten unter dem Abzug des chemischen Herdes, da bei der Mischung unter stürmischer Entwicklung braunroter Dämpfe von salpetriger Säure eine bedeutende Wärmeentwicklung eintritt. Zu dieser (rubinroten) Stammlösung wird hinzugesetzt 10%ige wässerige Salpetersäurelösung 100 ccm.

Eine etwas langsamer wirkende Entkalkungsflüssigkeit ist die folgende:

Phlorogluzin	1,0
Acid. nitric.	5,0
Alkohol	70,0
Aqua dest.	30,0.

519. Als eine schonend entkalkende Flüssigkeit, auch auf bereits fixierte Objekte anzuwenden, empfiehlt Thoma (91) Alkohol-Salpetersäure (abs. Alkohol 5 Vol., Acid. nitr. konzentr. [Sp. G. 1,3] 1 Vol.). Diese Flüssigkeit ist täglich zu wechseln und entkalkt in wenigen Tagen. Ausgewaschen wird in 95%igem Spiritus mit Zusatz von präzipitiertem kohlensaurem Kalk im Überschuß. Nach 8—14 Tagen

verlieren die Präparate jede Säurespur und werden, um Kalk zu entfernen, mit reinem 95%igem Spiritus gewaschen. Vgl. § 509.

520. »Fourgeroux zerlegte den Knochen in Lamellen, indem er ihn nach Extraktion der Kalkerde in heißes Wasser tauchte, wodurch die einzigen Lamellen sich freiwillig aufblätterten« nach Henle (41).

521. Der so vorbereitete und ausgewaschene Zahn, resp. Knochen, läßt sich, mit Zelloidin (siehe § 119) durchtränkt, schneiden. Man kann sehr gut entkalkte und kleine Knochen auch in Paraffin einbetten und schneiden, aber nur dann, wenn man möglichst weiche Paraffinsorten gebraucht.

522. Schmorl verdanken wir zwei elegante **Methoden,** um Knochenhöhlensysteme und deren Grenzscheiden darzustellen.

A. Man fixiert Knochenstücke beliebig, nur nicht in sublimathaltigen Flüssigkeiten, entkalkt sie, schneidet in Zelloidin und färbt entweder in Karbol-Thionin nach Nicolle, (Karbolwasser 100 und 10 ccm einer gesättigten Thioninlösung in 50% Alkohol) oder mit konzentrierter Thioninlösung in 50% Alkohol 10 Minuten lang; die Schnitte spült man in Wasser ab und überträgt sie auf 1 Minute in eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung; dann werden die Schnitte wieder mit Wasser gespült und mit 70% Spiritus gewaschen, bis keine Farbwolken abgehen (5—10 Minuten); man entwässert sie dann in 96% Alkohol, hellt mit Karbolxylol auf und schließt in Kanadabalsam ein. — Wenn die Färbung nicht recht gelingen will, setzt man zu der Farbe 1—2 Tropfen Ammoniakflüssigkeit. Resultate: Knochenhöhlen dunkelbraun auf hellbraunem Grunde, die Zellen rot. — Dieselbe Methode gilt auch für Zähne.

B. Man fixiert dünne Knochenscheiben in Formol, härtet sie dann 5—8 Wochen in Müllerscher Flüssigkeit und entkalkt nach v. Ebner. Man macht Zelloidin- oder Paraffinschnitte, färbt in oben angegebener Thioninlösung mit Zusatz von Ammoniak, spült gut mit dest. Wasser ab und differenziert mit konzentrierter Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure kurze Zeit. (Die Säuren greifen Metalle an, Glasinstrumente!); die Schnitte wäscht man nun aus, bis sie hellblau werden, 10 Minuten, und fixiert in Salmiakgeist, 1 zu 10 Wasser,

3—5 Minuten lang und überträgt direkt in 90% Alkohol, welchen man wechselt; durch absoluten Alkohol und Karbolxylol kommen sie in Kanadabalsam. Ist die Grundsubstanz zu dunkel geraten, schiebt man vor dem absoluten Alkohol 1%igen salzsauren Spiritus 5 Minuten ein. Die Methode gelingt nicht immer und paßt überhaupt nur für noch wachsende Knochen. Resultate: Grundsubstanz hellblau, Grenzscheiden schwarzblau.

523. Goetsch verfährt etwas anders. Fixierte und entkalkte Stücke werden geschnitten und in 5%igem Neutralrot in Karbolwasser 2—3 Stunden gefärbt; nach kurzem Abspülen in Wasser werden die Schnitte mit Glasnadeln in eine gesättigte Pikrinsäurelösung und 0,1 Sublimatlösung zu gleichen Teilen auf 2—4 Minuten übertragen, kurz in Wasser abgespült, auf einen Objektträger gelegt, mit Fließpapier getrocknet und in Xylol 3 Teile und Anilinöl 1 Teil differenziert. Diese letzte **Prozedur** ist die schwierigste, und es ist ratsam, die Resultate unter dem Mikroskop zu beobachten; man wasche mit Xylol und schließe in Kanadabalsam ein. Resultate: Knochen rotgelb, Zellkerne graublau, Knochenhöhlen und ihre Ausläufer mahagonibraun, mit einem Niederschlag ausgefüllt. Man kann auch mit Hämatoxylin vorfärben und statt mit Anilin-Xylol — 5 Minuten mit durch Pikrinsäure gelb gefärbtem Alkohol von 70%, dann 96%igem Alkohol, bis keine Farbteilchen aufsteigen, behandeln und durch abs. Alkohol usw. in Kanadabalsam einschließen. Beim Differenzieren mit Anilin-Xylol tritt der fibrilläre Bau des Knochens ebenfalls hervor.

524. Für Präparate junger Knochen und Zähne, die in chromsäurehaltigen Flüssigkeiten fixiert und entkalkt waren, empfiehlt **v. Korff** zur **Färbung:** Rubin S 2 g, Orange G 1 g, Glyzerin 7 ccm, Aqua dest. ad 100. Färbung $^1/_2$ Minute; differenzieren in 95%igem Alkohol. Resultate: Osteoblasten, Knochenzellen und Odontoblasten orange, ebenso ihre Ausläufer; die Fibrillen der unverkalkten Grundsubstanz rot, die verkalkt gewesenen Stellen der letzteren orange oder gelb.

525. Will man die **Weichteile für sich** allein untersuchen, so kann man durch geeignetes Sprengen des Zahns, resp. der Diaphyse des Knochens, welches bei einer gewissen Spannung im Schraubstock plötzlich und ohne Splittern zu erfolgen pflegt, große Stücke der Pulpa, resp. des Marks, intakt herausnehmen, oder man spalte mit

Hammer und Meißel, wobei man die Weichteile weniger leicht lädiert. Falls diese keine Hartteile, sekundäre Dentinbälkchen, resp. spongiöse Bälkchen der nicht ganz resorbierten endochondralen Diaphyse enthalten, können sie ohne weiteres fixiert und nach den allgemeinen Regeln weiter behandelt werden; sonst müssen sie auch noch entkalkt werden.

526. Gulenko verfährt anders. Er feilt den in einen Schraubstock vorsichtig eingespannten Knochen bis zur Markhöhle ab, dabei wird der Knochen, nach Abfeilen einer Fläche um die Längsachse gedreht und die anstoßende Fläche ebenso in Arbeit genommen, bis das Mark, ohne gedrückt zu werden, herausgeschält werden kann. Das Knochenmark junger Frösche, Mäuse, z. B., habe ich in dieser Weise isoliert und tadellos erhalten gesehen; die Elemente waren in normalem Zusammenhange und haben durch Erschütterungen beim Feilen keine Dislokation erlitten. Diese Methode bei Anwendung passender Instrumente läßt sich auf dickere Knochen übertragen. — Läßt man eine sehr dünne Knochenlamelle stehen, so ist die Gefahr der Verletzung des Markes nicht vorhanden, man braucht aber dann nur sehr kurze Zeit zu entkalken. Färbung der retikulären Grundlage nach § 458.

527. Die Elemente des vorher gezupften Knochenmarkes können an ausgebreiteten und fixierten Präparaten (s. § 391 ff.) untersucht werden.

528. Malassez tupft mit einem frischen Knochenmarkstückchen senkrecht auf den Objektträger. Der Druck darf so gering sein, daß nur ein Nebelfleck auf dem Objektträger entsteht; dieser wird nun fixiert, z. B. mit Osmiumdämpfen. Man darf dieses Verfahren nicht mit der Ausstrichmethode verwechseln, bei welcher die Elemente des Markes sehr alteriert werden.

529. Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von v. Koch (78) mit großem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten **Versteinerungsmethode.** Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahnschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alkohol und Terpentinöl, resp. Chloroform,

in eine Mischung von Kanadabalsam und Terpentinöl, resp. Chloroform, übertragen. Durch allmähliches Verdunsten des Chloroforms, resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen mehrere Wochen in Anspruch nimmt, werden der den Zahn imprägnierende Kanadabalsam und die Umgebung steinhart. Röse (92) empfiehlt, die Präparate im Wärmofen bei 50° C trocknen zu lassen, wozu etwa 3—4 Monate nötig sind. Man kann, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, am Schlusse etwas rascher eindampfen, nur muß man bei Beginn des Eindampfens möglichst geringe Temperaturgrade wählen. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden wie die Hartgebilde allein.

530. Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so wähle man ganz dünne Knochenlamellen: Nasenmuscheln und Siebbeinzellenwände usw. kleinerer Tiere liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergrößerung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kann. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

531. Befreit man dünne Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Fische durch Schaben mit einem Skalpell vom umgebenden Bindegewebe und legt dieselben eine Stunde in absoluten Alkohol, so füllen sich die Knochenkörperchen nach Ewald (97) mit Luft (Gas) und können dann durch Nelkenöl in Kanadabalsam (auch den gewöhnlichen Xylol-Kanadabalsam) übertragen werden.

532. Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Schliffe** her, indem man folgendermaßen verfährt: Man wähle alte, gut mazerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt, und die kleinsten Hohlräume im Knochen, auch Primitivröhrchen, sind mit Luft gefüllt. In gewöhnlicher Weise mazerierte Knochen sind nicht geeignet, vielmehr wähle man verweste, im Lauf der Jahre vom Regen ausgewaschene alte Knochen, wie man sie in Abdeckereien etc. findet.

In neueren Mazerationskammern der Anatomien sollen die Knochen so vollkommen entfettet werden, daß sie nach dem

Trockenwerden ohne weiteres für diese Zwecke ebenfalls benutzt werden können.

Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte, vermittelst einer Laubsäge z. B., eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will; man beginnt mit Quer- und Längsschliffen. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen werden die Flächen möglichst enge gemacht. Die eine Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte mit Kanadabalsam, § 205, befestigt, welche sich leichter mit der Hand fassen läßt als der dünne Schliff allein. Es geschieht dies, indem man auf der Glasplatte ein Stück **festen Kanadabalsams** (Grübler) durch Erwärmen über der Flamme flüssig macht. Dann legt man den Schliff auf und achtet darauf, daß zwischen Schliff und Glasplatte keine Luftblasen verbleiben. Nun kann die andere Fläche auf einem Schleifstein geschliffen werden, bis die Lamelle eine sehr dünne wird.

Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Kanadabalsam befestigt gewesen, was man an den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

533. Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, daß man ihn, ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend, von der einen und dann von der anderen Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird. Diese Methode ist keine sichere, und namentlich der Anfänger mache sich auf viel Materialverlust gefaßt. Die Methoden des Schleifens sind namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden, und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc., nach ihnen schleifen, nur daß man, je nach der Härte, entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

Große, gleichmäßig dünne Schliffe ohne Sprünge und Spalten wird man ohne maschinelle Vorrichtungen (rotierende Steine der Mineralogen etc.) nur mit der größten Übung erzielen können.

534. Aus freier Hand angeschliffene Zähne (resp. Knochen) werden in eine alkoholische, mit Benzol geklärte, Lösung von ungebleichtem Schellack, dem, um saure Reaktion zu vermeiden, etwas Natriumkarbonat zugesetzt wurde, auf 24 Stunden gebracht. Die Schliffe werden dann mit einem großen Tropfen der Schellacklösung auf Objektträger bei Ofenwärme bis zum Festwerden des Schellacks belassen, fein geschliffen und nach Lösung des Schellacks in Alkohol poliert usw. (v. Ebner 05).

535. Der Schliff kann, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, gleich in Kanadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objektträger benützt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Kanadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden. Man löst daher besser die nun sehr vorsichtig zu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Man reinigt den Schliff mit Äther oder Xylol, wäscht mit abs. Alkohol, trocknet ihn und betrachtet denselben etwa im Wasser; man sieht in der ersten Zeit außerordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen, und es tritt allmählich und sehr langsam Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Tatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

536. Einschluß des lufthaltigen Schliffes. Man erwärme ein Stückchen festen (durch Grübler zu beziehen) Kanadabalsam auf dem Objektträger, bis es flüssig wird, und nehme entstehende Luftblasen mit einer heißen Nadel weg. Nun lege man den vorher lufttrocken gemachten, weißgewordenen Schliff auf den flüssigen Kanadabalsam und bedecke rasch mit einem erwärmten Deckgläschen. Dabei hat man darauf zu achten, daß besonders auch der Raum zwischen Schliff und Deckgläschen mit Kanadabalsam gefüllt wird, was man eventuell durch Drücken mit der Nadel auf das Deckglas oder Nachwärmen erreichen kann. Der Kanadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit, und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Die Prozedur gelingt nur, wenn man rasch arbeitet. Man hat also ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

537. Auch an den **Schnitten** durch entkalkte Knochen gewinnt man durch **Eintrocknen,** aber nur an kleinen Bezirken, mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Knochenkörperchen, die man auf dieselbe Weise dauernd einschließen kann. Flemming (86).

538. Man kann bei Schliffen **anstatt** der **Luft** einen geeigneten Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** (Ranvier [75], löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser, oder einen anderen, z. B. Methylviolett oder Fuchsin (basisch). — Man verfährt dabei folgendermaßen: Man nimmt eine alkoholische, konzentrierte Lösung von Anilinblau, am besten in einem kleinen ca. 5 ccm fassenden Abdampfschälchen, legt den lufttrockenen Schliff hinein und erwärmt das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Prozedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese mit Messer, Pinzette und Pinsel, soweit es geht, und schließlich durch Polieren auf einer Glastafel, die mit einer 2- bis 3%igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt wird. Man spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schließe definitiv in Glyzerin-Kochsalz ein; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er schnell getrocknet und nach der vorhin erwähnten Methode in harten Kanadabalsam eingeschlossen. Diese Methode gelingt nur an gut mazerierten Knochen (s. § 532). Vorsicht ist notwendig beim Erhitzen der Farbe; entzündet sich dieselbe, so bedecke man die Abdampfschale bis zum Erlöschen der Flamme mit einem bereitgehaltenen, flachen Deckel und fahre dann mit dem Abdampfen fort.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Kanadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zulässig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

539. Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die **Zähne** (s. v. Ebner [91]) übertragen werden, wobei die **Dentinröhrchen** mit Luft, resp. Farbe, gefüllt werden. Schleifen mazerierter Zähne, Kochsche Versteinerungsmethode [s. § 529].

Die Struktur der Zähne kann auch an Schnitten untersucht werden. Selbstverständlich müssen die Zähne vorher entkalkt werden. Man wendet dieselben Methoden wie beim

Knochen an. Salzsäure, verdünnte Chromsäure und Pikrinsäure lösen jedoch die Schmelzprismen auf, wobei die Kittsubstanz der letzteren zuerst in Lösung tritt (von Ebner).

540. Schmelz junger Zähne färbt sich in Chromsäure und deren Salzen braun, in Osmiumsäure schwarz; schon in den Schmelzzellen (Adamantoblasten) sieht man Tropfen, welche Färbung mit Osmiumsäure annehmen (Graf Spee, 87). Ätzt man Längsschliffe durch den Schmelz mit Salzsäure, so tritt die Kreuzung seiner Prismen deutlich hervor (Retziussche Linien).

541. Um die **Fibrillen des Dentins** zu sehen, entkalke man einen Zahn in der von v. Ebner empfohlenen Flüssigkeit (siehe § 512); Zähne jugendlicher Individuen sind hierzu besonders geeignet. Auch kariöse Zähne liefern mitunter sehr deutliche Bilder. Ätzen der Schliffe mit Salzsäure führt ebenfalls zum Ziele.

542. v. Ebner (06) machte darauf aufmerksam, daß die Dentinfibrillen keine kollagenen sind im Gegensatz zu denjenigen, welche man in der Pulpa findet.

543. Das **Zement,** und namentlich das zellenarme, enthält eine große Zahl von Sharpeyschen Fasern.

544. Die Entwickelung der Zähne (auch Knochen) studiere man an Embryonen, deren Kiefer man fixiert, entkalkt und in Serienschnitte zerlegt. Am bequemsten verschafft man sich Schafembryonen, welche in Schlachthäusern fast immer zu haben sind.

545. Kleine frische Knochen oder Zähne oder mit der Säge dargestellte Plättchen solcher, die nicht über $^3/_4$ mm dick sein dürfen, kommen in ein Gemisch von 1%iger Goldchloridlösung und reiner Ameisensäure (2 Vol. zu 1 Vol.) auf 24 Stunden, werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit gewaschen und in eine Lösung von Gummi arab. in Glyzerin auf 24 Stunden übertragen. Nach abermaligem Waschen mit destilliertem Wasser und Überführung in Alkohol kann mit Zelloidin oder Paraffin durchtränkt und geschnitten werden usw. Die Schnitte zeigen exakt dunkelviolett gefärbte Primitivröhrchen, resp. Dentinröhrchen, in heller Grundsubstanz (Lepkowsky, 92).

546. An den mit Anilinblau behandelten Knochenschliffen sieht man, namentlich an Querschliffen, farblose, scharf begrenzte Kreise. Es sind **Sharpeysche Fasern** (Ranvier). Vgl. § 547 f.

547. Feine Knochenschliffe können im rotglühenden Platintiegel über einer Gasflamme $^1/_2$—1 Minute geglüht (bei längerem Glühen werden die Schliffe meist undurchsichtig) und dann untersucht werden. Beim Glühen wird die organische Substanz zerstört, und man bekommt unter anderem die Sharpeyschen Fasern, wenigstens die nicht verkalkten, äußerst deutlich zu Gesicht (Kölliker, 86).

548. Die Sharpeyschen Fasern kann man auch durch Färbung am entkalkten Knochen darstellen. Kölliker (86) verfährt folgendermaßen: Ein Schnitt von demselben wird mit Acid. acet. conc. durchsichtig gemacht und sofort auf kurze Zeit, $^1/_4$, $^1/_2$—1 Minute, in konzentrierte Indigokarminlösung gebracht, hierauf in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann entweder in Glyzerin oder in Kanadabalsam aufgehoben. Die Sharpeyschen Fasern werden blaßrot bis dunkelrot, die übrige Knochensubstanz blau.

549. Um die **Knochenkörperchen** Virchows zu **isolieren,** d. h. die Knochenhöhlen mit dazugehörigen Primitivröhrchen mit den sie begrenzenden Grenzscheiden, verfährt man in der Weise, daß man dünne Schliffe in einer konzentrierten Salpetersäure Virchow (50) einige Stunden bis einen Tag verweilen läßt; die Schliffe werden auf einem Objektträger deponiert und mit einem Deckgläschen bedeckt. Drückt man auf das Deckgläschen mit einer Nadel, so kommen in der Regel ellipsoidische Körper mit zahlreichen Ausläufern isoliert zum Vorschein.

550. Für Studium der **Ossifikation** nehme man als Material am besten Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, entkalke dieselben und schneide in der Längsrichtung etc.

551. Als Färbung kann man anwenden: Methylgrün-Eosin (siehe § 305) oder Karmin-Hämatoxylin. Nach der Färbung mit Borax-Karmin nachzufärben mit Hämatoxylin (Strelzoff, 73), Bismarckbraun, Thionin usw. Siehe auch v. Korff, § 524. Knorpelgrundsubstanz ist basophil, Knochengrundsubstanz acidophil.

552. Strelzoff selbst operierte wie folgt: Mit Müllerscher Flüssigkeit fixierte Objekte wurden gewässert und in konzentriertem Holzessig 2—8 Tage entkalkt; nach abermaligem Waschen und Behandlung mit Alkohol (von steigender Konzentration) wurde geschnitten. Er färbte dann mit Hämatoxylin nach Boehmer § 251 und dann mit neutralem karminsaurem Ammoniak § 646. Die verkalkt gewesene Grundsubstanz des Knorpels färbte sich blau, die Knochengrundsub-

stanz rot. Auch die die Knochengrundsubstanz begleitenden Osteoblasten, welche Kalk enthalten, sind blau; die am Periost gelegenen Osteoblasten dagegen rot. Strelzoff macht auf die färberische Affinität der Knochengrundsubstanz zu Goldchlorid und Chlorpalladium aufmerksam.

Demnach färben sich kalkhaltige Elemente wie ein Teil der Osteoblasten, Osteoklasten mit Hämatoxylin und mit basischen Farbstoffen überhaupt (Askanazy).

553. Vermittelst der Doppelfärbung Borax-Karmin — Bleu de Lyon (siehe § 290) färbt sich außer dem Knochengewebe und den Bindegewebsfibrillen auch das entkalkte Dentin, und man kann die feinste Ablagerung desselben auf diesem Wege nachweisen (Röse, 93).

554. Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt dieselben sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen (Klaatsch, 87).

555. Besonders zum Studium der Knochenbildung geeignete **Dauerpräparate durchsichtiger Embryonen** erhält man nach O. Schultze (97), indem man die mit Alkohol mindestens 8 Tage (nicht mit Säuren) fixierten Embryonen in wässerige Lösung von Kalium causticum von 3—5 % überträgt (bei größeren Embryonen das Hirn mit Pinzette und kleinem Löffel entfernen und die Bauch- und Brusteingeweide nach einem Medianschnitt durch die Bauchdecken). Sind die Embryonen durchsichtig, so können sie in Glyzerin mit Formolzusatz (Wasser 100, Glyzerin 30, Formol [35 %ig] 2) konserviert werden. Vgl. § 503.

Literatur zu Kapitel 6: Schaffer (88, 93 und 03), für Zähne v. Ebner (91).

7. Kapitel. Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel.

556. Die **quergestreiften Muskeln,** z. B. einem Schenkel eines Frosches entnommen, werden **frisch** auf einem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung oder einer anderen indifferenten Flüssigkeit untersucht. Die Querstreifung von solchen Muskeln ist kaum zu sehen, besser die Fibrillärstreifung.

Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind in der Regel Fettkügelchen.

557. Nach einiger Zeit hebt sich schon bei dieser Untersuchungsweise das **Sarkolemma** gewöhnlich ab.

Noch rascher kann man das Sarkolemma dadurch zur Ansicht bringen, daß man zu frisch gezupften Muskelfasern etwas Wasser zusetzt; es hebt sich alsdann das Sarkolemmahäutchen so ab, daß es mehr oder weniger auffällige Hervorragungen bildet.

558. Nach Ewald (90) verhält sich das Sarkolemma anders wie kollagenes Bindegewebe Trypsin gegenüber; Sarkolemma wird nämlich ohne weiteres darin gelöst. Wenn man es aber mit Osmiumsäure fixiert, dann kocht und nun mit Trypsin behandelt, so bleibt es unverändert, Bindegewebe aber, ebenso behandelt, löst sich auf.

559. Für die Darstellung des Sarkolemmas empfiehlt Solger (89a) statt des gewöhnlichen Wassers, resp. Kochsalzes, die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung des kohlensauren Ammoniaks. Schon nach 5 Minuten hebt sich der Sarkolemmaschlauch an sehr vielen Stellen ab.

560. Nach Froriep (78) verhält sich das Sarkolemm gegenüber mikrochemischen Reagenzien nicht wie eine Zellmembran, sondern wie Bindegewebe; es wird von Trypsin nicht angegriffen, löst sich (bis auf einen ganz kleinen Rest) durch Kochen in verdünnter Säure, »verhält sich also wie leimgebendes Bindegewebe und ganz entgegengesetzt den protoplasmatischen Gebilden«.

561. Man sieht die **Querstreifung** sehr gut an alten, in **Spiritus** längere Zeit (Monate, Jahre) aufbewahrten Wirbeltiermuskeln, die man nach der Isolation auf dem Objektträger oder in Schnitten mit Hämatoxylin färben und in verdünntes Glyzerin einschließen kann. Die doppeltbrechenden Substanzen erscheinen dunkelblau, das übrige heller bis farblos. Denselben Effekt bewirken auch andere Farbstoffe, z. B. die basischen Aniline.

562. Färbt man z. B. mit 0,5—1 %iger Thiazinrotlösung Muskelschnitte, bis sie kräftig gefärbt, aber doch noch durchsichtig bleiben und färbt dann mit einer basischen Farbe, z. B. Thionin oder Methylenblau 1—12 Stunden nach, differenziert dann mit Alkohol, oder, wenn dieser nicht energisch genug die Farbe auszieht, mit Methylalkohol, so erhält man eine sehr präzise Färbung von Z, M, J, h; Q bleibt ungefärbt. Auch die Schaltstücke in der Herzmuskulatur färben sich sehr schön. M. Heidenhain, 03.

563. Es ist eine Anzahl von Reagenzien vorhanden, die den **fibrillären Zerfall** der Muskelfaser beim Zupfen begünstigen.

Spiritus in allen Konzentrationen (ausgenommen die allerschwächsten etwa bis 10 %).

Sehr dünne Chromsäurelösungen (unter $^1/_{10}$ %), dünne Lösungen der chromsauren Salze.

564. Schwache Essigsäure ($^1/_2$ bis 1 %), eine 1 bis 5 ‰ige Salzsäurelösung. Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben (aber in keine Bowmanschen).

565. Verschiedene Käferarten (z. B. Hydrophilus piceus) werden nach Rollett (85) äußerlich abgetrocknet und lebend in Alkohol von 93 % gebracht. Die Muskeln zeigen unter Umständen Zerfall in **Bowmansche Scheiben** (Querscheiben) bei erhaltenem Sarkolemma. Man untersucht sie nach 24 bis 48 Stunden in verdünntem Glyzerin. Nach 10—12 Tagen verwende man, um sie, wenn man, was sehr zu empfehlen ist, beabsichtigt, mit Hämatoxylin zu tingieren, Glyzerinhämatoxylin. Man setze zu mit Wasser verdünntem Glyzerin wenig Hämatoxylin zu, zupfe in demselben und färbe 6—12 Stunden.

Verdünnte Säuren dagegen machen die Substanz der Bowmanschen Scheiben selbst quellen und lösen dieselbe endlich auf (Krause). Die Säurewirkung studiere man nach Rollett, indem man Käfermuskeln, welche 24 Stunden in 93 %igem Alkohol gelegen haben und die den früher beschriebenen Scheibenzerfall zeigen, in Glyzerin zupfe und an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen Glyzerin bringe, welchem eine Spur von 1 %iger Ameisensäure zugesetzt worden war. Dann untersuche man auch in 1 %iger Ameisensäure direkt.

566. Zum weiteren Studium (auch der **Cohnheimschen Felder)** empfiehlt sich Vergoldung (siehe § 606 ff.). Rollett verfährt folgendermaßen: Man bringe ganz frische Käfermuskeln nach Retzius in $^1/_5$—$^1/_2$ %ige Goldchloridlösung, ziehe sie mit Platinnadeln etwas auseinander, lasse sie 20 bis 25 Minuten im Goldbade verweilen und bringe sie dann in 1 %ige Ameisensäure oder Bastian-Prichardsche Reduktionsflüssigkeit (siehe Prichardsche Lösung).

567. Es ist nicht gleichgültig, ob man einen **gedehnten** oder **nicht gedehnten**, kontrahierten oder schlaffen **Muskel** untersucht.

Um sich alle diese Zustände des Muskels zu beschaffen, verfährt man in der Weise, daß man durch eine passende Lage der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer

Muskelgruppe, den gedehnten oder nicht gedehnten Zustand herstellt. Ist das geschehen, so injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spritze etwa $^1/_4$—$^1/_2$ ccm einer 1%igen Osmiumsäure oder einer anderen geeigneten Fixierungsflüssigkeit, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15—20 Minuten schneidet man mit einer krummen Schere in dieser Weise fixierte Stücke aus, wäscht sie mit destilliertem Wasser und fasert auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten.

Solche gedehnte und nicht gedehnte Muskeln können aber auch in Tetanus versetzt werden, indem man die Muskeln beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in ganz gleicher Weise weiter behandelt (Ranvier, 89).

568. Auch **rote** und **weiße Muskeln** sehen nicht ganz gleich aus, namentlich, was die Höhe der Scheiben und die Verteilung des Sarkoplasmas betrifft.

Die Mehrzahl der Muskeln der unteren Extremität des Kaninchens ist weiß, hat wenig Sarkoplasma und zuckt schnell, rot sind dagegen der Semitendinosus, Cruralis, Adductor brevis, Soleus, Quadratus femoris, sie zucken träge, haben reichlicheres Sarkoplasma, welches die Fibrillen in Gruppen zerteilt. (Ranvier 89, Pantul 04.)

569. Die Beziehungen der Fibrillengruppen zum Sarkoplasma (Cohnheimsche Felder) und die Kerne studiere man an Querschnitten mit Osmiumsäure in gedehntem Zustande fixierter Muskeln. Auffallend viel Sarkoplasma im Verhältnis zu der Menge der Fibrillen sieht man beispielsweise an den die Rückenflosse des Seepferdchens bewegenden Muskeln; unter den Säugetieren bieten die Brustmuskeln der Fledermäuse ähnliches (Rollett, 89).

570. Um die **Verteilung der Kerne** in verschiedenen Muskelarten der verschiedenen Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (siehe § 606 ff.) und quer, resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarkoplasma.

571. Um die **Beziehungen der Muskelfaser zur Sehne** zu studieren, werden außer dünnen, gut fixierten, orientierten und gefärbten Schnitten die Methode von Weismann und die von Ranvier angewendet.

572. Kleine Muskeln mit entsprechenden Sehnen werden mit 35%iger Kalilauge 1/4 Stunde lang behandelt und dann auf dem Objektträger die Stelle zwischen Muskel und Sehne gefasert. So lassen sich Muskelfasern im Zusammenhang mit der entsprechenden Sehne isolieren (Weismann, 61).

573. Ranvier empfiehlt, einen lebenden Frosch in Wasser von 55° C zu setzen; er verendet darin sehr bald, und die Muskeln werden starr. Man lasse den Frosch in dem kälter werdenden Wasser 1/4 Stunde, dann wird er herausgenommen. Man schneidet mit einer Schere einen kleinen Streifen aus, der gleichzeitig Muskel und Sehne enthält, und fasert im Wasser.

574. Für Isolation der freien Enden der Muskelfasern gibt es eine Methode von Rollett (vgl. Kühne, 62), nach der man Muskelfasern im zugeschmolzenen Röhrchen etwa 10 Minuten auf 120—140° im Sandbade erhitzt.

575. Zum selben Zwecke empfiehlt Kühne (62): In 0,1 g Schwefelsäure (0,83 spez. Gew.) auf 1 l Wasser bringe man den Muskel auf 24 Stunden; während dieser Zeit prüft man die Reaktion der Flüssigkeit, und wenn dieselbe nicht mehr sauer ist, ersetzt man die Flüssigkeit durch eine neue. Man schüttelt nun den Muskel mit destilliertem Wasser in einem Probierglase, erneuert das Wasser, bis es nicht mehr sauer reagiert, und setzt dann den Muskel in einem größeren Gefäß mit destilliertem Wasser in einen Thermostat von 35—40° C. Nach 24 Stunden bei abermaligem Schütteln in einem Probierglas mit destilliertem Wasser zerfallen die Muskeln in Fasern.

576. Auf die Beziehungen der Muskelfibrillen zu »Sehnenfäserchen« an dem Polster der Unterlippe des Kaninchens macht W. W. Podwissotzki (87) aufmerksam, und zwar mit der Methode: Flemmingsche Flüssigkeit, Safranin und Ausziehen mit Pikrinsäure. Er hat gefunden, daß eine jede Muskelfibrille sich in eine Sehnenfibrille unmittelbar fortsetzt.

577. Palladiumchlorür in einer 1—2‰igen Lösung angewandt, färbt quergestreifte Muskeln bräunlich, die glatten Muskelzellen strohgelb (die Markscheiden der Nerven färben sich dabei schwarzgrau); da andere Elemente, besonders Bindegewebe, sich dabei nicht färben, ist dieses Reagens für den Nachweis glatter, zerstreuter Muskelelemente von Bedeutung. Anwendung: Kleine Stücke

kommen in eine — mit einem Tropfen konzentrierter Salzsäure auf 100 — angesäuerte Palladiumchlorürlösung auf 24 Stunden und länger, dann werden sie in fließendem Wasser gewaschen und mit Alkoholen von steigender Konzentration entwässert. (F. E. Schulze.)

578. Glatte Muskelfasern werden mit starker bis 20%iger rauchender Salpetersäure isoliert. (Reichert, 49a). Frische Stücke der Muskelhaut eines Darmstückes werden in die eben angegebene Salpetersäure auf einige Stunden (2—3 Stunden) eingelegt. So vorbereitete Muskeln werden mit Wasser gewaschen und lassen sich sehr gut auf dem Objektträger zerfasern. Läßt man die Stücke in der Salpetersäure längere Zeit (12—24 Stunden), so fallen die Muskeln beim Schütteln von selbst auseinander; die einzelnen Muskelzellen aber sind schlecht erhalten, unregelmäßig gezackt, und der Kern ist vollkommen aufgelöst. Solche Präparate können in Glyzerin als Dauerpräparate eingeschlossen werden.

Um die glatten Muskelzellen gut zu erhalten, kocht man Darmmuscularis in 2,5%iger Salizylsäure (Froriep, 78) und bewahrt sie darin auf. Nach Monaten läßt sich die Muskelhaut vollkommen zerschütteln.

579. Legt man aber kleinere Stückchen in eine **Kalilaugelösung**, 1,33 (32,5%) spezifischen Gewichts und beläßt sie dort $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden, so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern zahlreiche deutliche Spindeln darstellen. Ist der Mazerationsprozeß vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. In derselben Weise isoliert man die verzweigten quergestreiften Muskelzellen aus der Zunge des Frosches. Auch in Spiritus gewesene Präparate lassen sich auf die angegebene Weise mazerieren (Moleschott, 59 und 63). Will man die Mazeration unterbrechen, so setze man der Kalilauge etwa 60% Kali aceticum zu; will man färben, so wasche man mit Alaun aus.

580. Es ist zwar möglich, durch vorsichtiges Neutralisieren der Kalilauge mit Säuren, Auswaschen und Färben solche Präparate in Glyzerin überzuführen, die Prozedur ist aber eine komplizierte und minuziöse.

Ewald (97) gießt 30%ige Essigsäure im Überschuß zum Brei der mit Kalilauge isolierten Elemente, läßt absetzen, hebert ab, färbt mit Hämatoxylin und verfährt weiter, wie in § 375 angegeben wurde.

Born bereitet die durch die Kalilauge isolierten Muskelfasern dadurch zum Einschließen vor, daß er sie zunächst in Glyzerin zerteilt und darauf 2—3 Tropfen salzsäurehaltigen Glyzerins und Jodtinktur so lange zusetzt, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glyzerins nicht mehr verschwindet. Die Jodfärbung der Fasern schwindet später wieder, kann aber durch Karminfärbung ersetzt werden, siehe auch Gage.

581. Levi (04) isoliert glatte Muskelfasern mit einer 1—2%igen **Natronfluoridlösung**; letztere soll überhaupt Kittsubstanzen lösen. Auch mit dieser Methode isolierte Elemente lassen sich schlecht färben.

582. An kleinen Gefäßen, z. B. den Mesenterien kleinerer Tiere, lassen sich die Kittlinien der glatten Muskelfasern sehr schön darstellen. Solche Bilder findet man gelegentlich an Mesenterien die man zum Zwecke der Endothelzeichnung hergestellt hat, vor (siehe § 378).

583. Mit einer 1%igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches, wird mit Paraffin durchtränkt und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern. Die sog. **Nukleinspiralen** der Kerne sind sehr empfindlich und vergehen schon $^1/_4$ Stunde nach dem Tode. Die beste Fixierung frischen Materials ist Sublimat-Eisessig. Münch.

584. Albert Müller hat den bedeutenden Form- und Größenunterschied der glatten Muskelzellen in kontrahierten und vollen Organen beschrieben und auf eine verschiedene Anordnung der kontraktilen Elemente in beiden Zuständen hingewiesen. Bei der Umordnung der Elemente ist das intermuskuläre Bindegewebe tätig.

585. An dünnen (5 μ) Querschnitten durch gut fixierte (z. B. mit Flemmingscher Lösung) glatte Muskelfasern, etwa der Muscularis des Darmes einer Katze, sieht man zwischen den Muskelfasern Zellbrücken, die den Querschnitten der Zelleisten entsprechen (Barfurth, 91). Vgl. auch § 386 f.

Schaffer (99), welcher die an Querschnitten glatter Muskelfasern zu beobachtenden, Interzellularbrücken ähnlichen Verbindungen (Kultschitzky, Barfurth) als ein Kunstprodukt bezeichnet, weist ein zwischen den Muskelfasern sich findendes zartes, von Lücken durchsetztes Bindegewebe mit Pikrofuchsin (siehe § 455) und Pikronigrosin (siehe § 455) nach, siehe auch § 458.

586. Ein vortreffliches Objekt für Untersuchung der glatten Muskelbündel ohne Isolation findet man im Mesenterium des Enddarmes von Salamandern (sie verlaufen hier in der Richtung des Darmes), Ebner (82), und in der gedehnten Harnblase desselben Tieres oder des Frosches. »Um dieses Präparat von der Froschblase gut zu erhalten, binde ich den Darm oberhalb der Blase ab und injiziere vom After aus Drittelalkohol, bis die Blase prall gespannt ist. Die Kanüle bindet man in der Weise ein, daß man die Haut um den Anus herum umschneidet und sie über der Kanüle zusammenbindet. Beim Herausziehen der letzteren bindet man den Anus auf dieselbe Weise ab. Nunmehr schneide ich den ganzen Körper des Frosches rund um die Blase herum ab und hänge diese auf 24 Stunden in Drittelalkohol ein. Am nächsten Tage wird die Blase ab- und aufgeschnitten, in Hämatoxylin gefärbt und das Epithel abgepinselt. Die Kongofärbung folgt zuletzt nach.« Heidenhain (03b.)

587. Die **Herzmuskelfasern** vom Myokard des erwachsenen Menschen zerfallen mitunter durch Mazeration in 20%iger rauchender Salpetersäure (bis 24 Stunden) in die den Myoblasten entsprechenden Stücke mit je einem Kern. (Kalilauge vom spez. Gewichte 1,33 $^1/_2$—1 Stunde angewandt, tut dasselbe). Die Grenzen zwischen den Myoblasten des Myokards verschwinden nicht immer spurlos und lassen sich z. B. mit Hämatein mitunter, wenn auch nur stellenweise, nachweisen, vgl. § 562.

588. Die Muskelzellen der **Purkinjeschen Fäden** werden in der Weise dargestellt, daß man $^1/_2$ mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig Ranvierschen $^1/_3$ Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch 5%ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches (Ranvier, 89).

Es läßt sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinjeschen Fäden werden abgehoben und zerzupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln isolieren, eventuell isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben (nicht zu stark) und in Glyzerin einschließen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde, nicht des Menschen.

589. Die **markhaltigen Nervenfasern** kann man im überlebenden Zustande in einer indifferenten Flüssigkeit (siehe § 11 ff,) zerfasern und in dieser Weise studieren.

Frische Nerven, einem eben getöteten Tiere, z. B. Frosch (Nervus ischiadicus), entnommen, werden auf dem

Objektträger sorgfältig der Länge nach gefasert. Es empfiehlt sich, auch hier die Ranvier'sche Halbeintrocknungsmethode zu befolgen (siehe § 450). Ist die Prozedur fertig, so kann man physiologische Kochsalzlösung hinzusetzen und den eigentümlichen Glanz der Markscheide, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvier'schen Einschnürungen, mitunter Lantermann'sche Segmente und selten die Kerne sehen.

590. Setzt man Wasser hinzu und namentlich destilliertes, so verändern sich die Markscheiden in kürzester Zeit in eigentümlicher Weise; es verschwinden die **Ranvier'schen Einschnürungen**, später auch die Lantermann'schen Segmente, und es treten innerhalb der Markscheide eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fließt das Mark aus und gerinnt zu sehr typisch aussehenden **Myelintropfen.** Diese letzteren trifft man auch massenhaft, wenn man weiße Substanz des zentralen Nervensystems fasert.

591. Zu frisch hergestellten Zupfpräparaten kann man auch eine 1%ige Überosmiumsäure zusetzen und in einer feuchten Kammer $^1/_2$ Stunde einwirken lassen. Die Nerven sind fixiert, und die Markscheiden fangen an, schwarz zu werden. Die Ranvier'schen Einschnürungen bleiben farblos und heben sich dadurch scharf ab. Entfernt man die Osmiumsäure mit Fließpapier, legt ein Deckgläschen auf die zerzupften Nerven, wäscht zunächst mit destilliertem Wasser, welches man von einer Seite des Deckglases zufließen läßt und auf der anderen mit einem Streifen Fließpapier aufsaugt, gut aus und läßt dann anstatt des Wassers langsam Glyzerin zufließen, so kann man in der letzteren Flüssigkeit dauernd einschließen (s. § 209).

592. Zu frischen gezupften Präparaten kann man ferner wässerige Silbernitratlösung etwa $^1/_{10}$% hinzusetzen (auch nach § 381). Nach 5 Minuten entfernt man den Tropfen mit Fließpapier und verfährt im übrigen wie im vorigen Falle, d. h. man wäscht mit destilliertem Wasser unter dem Deckglase, setzt allmählich Glyzerin zu etc.

Man erhält auf diese Weise die bekannten **Ranvier'schen Kreuze** und die Frommann'schen (64) Linien; die letzteren pflegen erst später unter dem Einflusse des Lichtes zu erscheinen. Will man solche Präparate in Kanadabalsam einschließen, so kann man Wasser durch Alkohol unter dem Deckglase ersetzen, den letzteren mit

Nelkenöl; dieses wird mit Fließpapier entfernt, und man läßt Kanadabalsam hinzufließen.

Auch folgende Methoden können mit Vorteil in Anwendung gebracht werden.

593. Ein dünner Nerv, etwa der Ischiadicus eines Frosches, wird in situ auf einem Stückchen Holz mit Nähfäden aufgespannt, herausgeschnitten und mit einer $^1/_2$ %igen Osmiumsäure etwa 12 Stunden behandelt. Der fixierte Nerv wird etwa $^1/_2$ Stunde mit destilliertem Wasser gewaschen, kommt dann direkt in absoluten Alkohol auf etwa 2 Stunden, wird in einem ätherischen Öle ebensolange aufgehellt und kann nun auf dem Objektträger zerfasert werden. Es wird dazu aber nur das Stück gebraucht, welches zwischen den Schnürstellen gelegen ist, und zwar in einiger Entfernung, etwa $^1/_2$ mm von derselben entfernt. Solche gezupfte Präparate können direkt in Kanadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überflüssige Öl mit Fließpapier entfernt hat.

594. Beliebig dicke Nerven, z. B. eines Säugetieres, werden in mäßig gespanntem Zustande in eine $^1/_2$ bis 1%ige wässerige Silbernitratlösung auf 12—24 Stunden gelegt, kurze Zeit mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen. Solche Nerven können entweder wie im vorigen Beispiel gezupft oder aber nach den allgemeinen Regeln, z. B. mit Paraffin, durchtränkt und der Länge nach geschnitten werden. Es erscheinen nach kurzer Zeit im Lichte Ranviersche Kreuze und Frommannsche Linien und Grenzen der Endothelzellen der Perineurien (lamellöse Scheiden).

595. Vor Jahren haben Kühne und Chittenden (89) auf eigentümliche Netze innerhalb der Markscheide aufmerksam gemacht, die man vermittelst der Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin (§ 471 ff.) oder Pepsin gewinnen kann. Noch einfacher bringt man diese zur Anschauung, wenn man markhaltige Nerven mit Alkohol und Schwefeläther behandelt, zerfasert und mit Hämatoxylin, z. B. mit Böhmerschem, auf dem Objektträger färbt. Diese Netze, deren Präexistenz noch nicht strikte nachgewiesen ist, färben sich blau und sind die Hornspongiosanetze Kühnes.

596. Björkenheim gibt genau die Methode von Unna (vgl. Max Joseph), wie man Schnitte mit **Pepsin** auf dem Objektträger behandelt, wieder. Nachdem die Schnitte 24 Stunden in Barytwasser gelegen haben (§ 472) und gründlich mit Wasser ausgespült worden sind, kommen

sie auf 1—6 Tage bei 37—40° in die Verdauungsflüssigkeit, welche aus einer 0,5%igen Lösung von pepsinum Langebeck in einer 1%igen Salzsäurelösung besteht (0,5 g auf 100 ccm), bis alles für das bloße Auge verschwunden zu sein scheint. Man wäscht dann mit Wasser aus, trocknet mit Fließpapier ab, färbt 1 Minute mit polychromem Methylenblau, trocknet mit Fließpapier, trägt die Schnitte in eine 1%ige wässerige Lösung von rotem Blutlaugensalz, trocknet mit Fließpapier zum letztenmal ab, wäscht mit salzsaurem Alkohol aus und führt durch Bergamottöl in Kanadabalsam über. »Alles, was hierbei unverändert geblieben und blau gefärbt bleibt, ist Keratin.«

597. Die **Schwannsche Scheide und die Kerne** studiert man an mit Osmiumsäure behandelten, gezupften und eventuell gefärbten Präparaten.

598. Die **Henlesche Scheide** untersucht man an sehr feinen Nerven, die man mit Silbernitrat nach der bei den Endothelien (siehe § 378) angegebenen Methode behandelt.

599. Behandelt man nach Fleischl (74) die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Achsenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu einem dünneren (Chromsäure-) oder dickeren (Alkohol-) Faden zusammengebacken — sog. Achsenzylinder.

Um den **Achsenzylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die Nerven mit sehr schwacher Chromsäure, etwa $^1/_{10}$%, oder mit schwachem doppeltchromsaurem Kalium in etwa $^1/_5$%iger Lösung oder in Holzessig (mit nachfolgender Safraninfärbung) einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sog. Achsenzylinder bloßzulegen. Ganz besonders große Strecken des Achsenzylinders quellen hervor, wenn man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von v. Kölliker (93) empfohlen wird.

600. Um die **Fibrillen** zur Darstellung zu bringen, empfiehlt sich folgende Methode Kupffers (83): Nervus ischiadicus eines Frosches z. B. wird bloßgelegt, auf einem Stückchen Holz in seiner natürlichen Spannung mit Faden befestigt, ausgeschnitten, auf etwa 4 Stunden in $^1/_2$%ige wässerige Überosmiumsäurelösung gebracht, ebensolange Zeit in destillier-

tem Wasser ausgewaschen und mit 90%igem Alkohol etwa 24 Stunden nachbehandelt. Den so fixierten Nerven werden Stückchen von etwa $^1/_2$ cm Länge entnommen und in einer gesättigten, wässerigen Lösung des sauren (?) Fuchsins 12 Stunden lang gefärbt und dreimal 24 Stunden in absolutem Alkohol nachbehandelt. Man durchtränke solche Stückchen in gewöhnlicher Weise mit Paraffin (belasse sie aber nur je $^1/_2$ Stunde in den Durchtränkungsflüssigkeiten) und schneide möglichst dünn, nicht über 3 μ. Die Fibrillen erscheinen, wenn die Färbung gelungen ist, rot, das interfibrilläre Plasma farblos; am instruktivsten sind die Längsschnitte, welche mit besonderer Sorgfalt orientiert sein müssen.

Man kann ähnliche, jedoch nicht so schöne Resultate erzielen, wenn man statt des sauren Fuchsins Bismarckbraun (Kölliker) und ähnliches in analoger Weise anwendet.

Die Gebilde des Achsenraumes lösen sich in einer 1‰igen Salzsäurelösung und in einer 10%igen Kochsalzlösung (Halliburton).

601. Mönkeberg-Bethe fixieren in 0,25%iger **Osmiumsäure** 24 Stunden, wässern 4—6 Stunden, behandeln direkt mit 90%igem Alkohol 10 Stunden und darüber, wieder mit Wasser 4 Stunden, dann 6—12 Stunden mit einer 2%igen Lösung von Natriumbisulfit, zu welcher 2 bis 4 Tropfen Salzsäure auf je 10 ccm zugesetzt werden. Wasser 1—2 Stunden, Einbetten in Paraffin durch Alkohol und Xylol, Aufkleben der Schnitte von 2—3 μ mit sehr verdünntem Eiweiß; nach Entfernung des Paraffins mit Xylol werden die Schnitte mit Alkohol und Wasser behandelt und kommen in eine 1—4%ige Ammoniummolybdatlösung auf 5—10 Minuten in den Thermostat bei 25°. Nach mehrmaliger Spülung mit Wasser, um den Niederschlag mit der Farbe zu vermeiden, wird mit 0,05—0,1%iger **Toluidin**lösung 5 Minuten bei 50—60° C gefärbt (man überschüttet die Schnitte mit der Farbe!); Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Die Methode geht für die Darstellung der Fibrillen peripherer Nerven und der des zentralen Nervensystems. (Warnke.)

602. Nach Bethe (04) sind die Fibrillen basophil und behalten die Basophilie nach Fixierung mit Alkohol. Die Fibrillen färbt man mit Toluidinblau, sie werden rötlich. Da sich auch die Markscheide etwas mitfärbt, behandelt man die gefärbten Präparate längere Zeit mit Toluol, wo sie die Farbe verliert, die Fibrillen aber ihre Färbung beibehalten.

603. Remaksche Fasern werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus, oder besser, den Vagus

eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt und dann fasert. Zwischen den markhaltigen schwarzen Fasern des Vagus findet man zahlreiche sympathische. Die letzteren bleiben bei dieser Behandlung nahezu ungefärbt.

604. Zum Studium der allgemeinen **Verbreitung von Nerven in Muskeln** empfiehlt sich 8—12 Tropfen Essigsäure auf 100 ccm destilliertes Wasser; kleine Muskeln werden darin in wenigen Stunden durchsichtig (Kölliker). Ebenso gute Dienste tut die Salzsäure 1 ‰ig; sie löst das Syntonin und verschont die Nerven (Engelmann).

605. Für die Darstellung der **Nervenenden in den quergestreiften Muskeln** wähle man, wenn möglich, kurze Muskeln, z. B. die Augenmuskeln. Solche werden ausgeschnitten, auf einem Objektträger ausgebreitet und mit Nadeln vorsichtig der Länge nach gefasert. Setzt man eine 1 %ige Essigsäure zu, bedeckt mit einem Deckglase, so treten nach ein paar Stunden die Nerven hervor, und man kann diese bis in den Muskel verfolgen. Die Essigsäure-Präparate lassen sich nicht dauernd einschließen.

606. Für das Studium der Nervenendigungen überhaupt, und der im Muskel insbesondere, ist die von Cohnheim (67 a) (für Cornea) eingeführte sogenannte **Vergoldung** von Bedeutung. Die Vorschrift lautet: Kleinere Stücke (in unserem Fall Muskel) kommen in eine ½ %ige, mit einer Spur Essigsäure angesäuerte Goldchloridlösung, bis sie gelb werden (einige Minuten bis ½ Stunde). Dann werden sie mit dest. Wasser flüchtig abgespült und bleiben in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser im Dunkeln stehen. In der Regel verändern die Stücke hierbei die Farbe, werden gelbgrau, grauviolett, rot, wofür unter Umständen 1—3 Tage nötig sind. Die günstigsten Stellen sucht man in den Nüancen von Violett zu Rot. — Die Goldmethode ist keine sichere. Sie führt gar oft zu schlechten oder gar keinen Resultaten, und man ist in den meisten Fällen nicht einmal imstande, die Fehlerquellen anzugeben.

607. Goldchlorid wird mit Wasserstoffhyperoxyd augenblicklich reduziert.

Von den für die Nervenenden im Muskel gebräuchlichen Methoden nennen wir als die zwei relativ sichersten die Löwit-Fischersche und die Ranviersche.

608. Die **Löwitsche** (Löwit, 75, Fischer, 76, Bremer, 82) **Methode.** Kleine Muskelstücke (1 mm) werden

in $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) gelegt, bis sie durchsichtig werden (ein paar Minuten). Sie werden alsdann in eine kleine Quantität einer 1 %igen Goldchloridlösung (andere Forscher, wie z. B. Grabower 02, nehmen schwächere Lösungen, z. B. $^1/_4$ %) auf etwa $^1/_4$ Stunde übertragen, in dieser Flüssigkeit werden sie gelb. Die Stücke kommen in die $^1/_3$ Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in der Dunkelheit; man kann sie dann auf ebensolange in eine konzentrierte Ameisensäurelösung übertragen, in welcher sie ebenfalls im Dunkeln gehalten werden.

Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Die zentrale Partie der Stücke ist gewöhnlich violett, die periphere schmutzigbraun. Zwischen den beiden Schichten liegen Muskelfasern, welche die am besten tingierten Nerven und Nervenendapparate aufweisen.

609. Kühne (86) säuert mit $^1/_2$ %iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1 %igem Goldchlorid und reduziert mit 20 bis 25 %iger Ameisensäure, gelöst in Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen.

610. Ranvier (89) behandelt Muskelstücke, bevor er sie in eine 1 %ige Goldchloridlösung überführt, mit Zitronensaft. (Ranvier macht darauf aufmerksam, daß nur frisch gereifte Zitronen geeignet sind; dieselben werden ausgepreßt und durch Flanell filtriert.) Im Zitronensaft verbleiben die Stücke, bis sie durchsichtig werden (Minuten); von da überträgt man die Stücke in eine 1 %ige Goldchloridlösung auf ca. 20 Minuten; mit destilliertem Wasser kurz abgespült, kommen sie in ein schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser), worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen gelassen werden. Bei so behandelten Stücken ist die Reduktion des Goldes keine vollkommene, deshalb dunkeln die daraus gewonnenen Präparate in der Regel nach; dies ist nicht der Fall, wenn man statt des schwachen Essigsäurewassers $^1/_3$ Ameisensäure (wie bei Löwitscher Methode) 24 Stunden im Dunkeln einwirken läßt.

611. Golgi (80, siehe 94) säuert mit $^1/_2$ %iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium $^1/_2$ %ig $^1/_2$ Stunde, spült mit Wasser ab und bringt dann in 1 %ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

612. Muschenkoff empfiehlt:

Objekte, nicht über $^1/_2$ ccm, kommen entweder in eine 2%ige doppeltchromsaure Ammoniaklösung oder in doppeltchromsaures Kalium derselben Konzentration auf etwa 30 Tage. Nach dem Waschen werden die Stücke in frischen Zitronensaft oder in 20% Ameisensäure auf 15—20 Minuten übertragen. Nach Abspülen mit destilliertem Wasser werden die Stücke in eine $^1/_2$%ige Goldchlorid- oder Goldchloridkaliumlösung auf $^1/_2$ Stunde eingelegt. Reduziert wird in mit Essigsäure etwas angesäuertem Wasser.

613. Die Vergoldungsmethoden sind alle unsicher. Am leichtesten gelingen die Vergoldungen bei Reptilien (unter diesen bei Pseudopus Pallasii), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind die Vögel, Amphibien und Fische. Augenmuskeln der Knochenfische sollen aber günstig sein.

614. Golgis Nervenendorgane in den Sehnen der Säugetiere und Vögel werden gleichfalls durch Vergoldung dargestellt.

615. Stöhr (94) empfiehlt folgende Methode: Eintauchen in eine Mischung von 8 Teilen Goldchlorürlösung zu 1% und 2 Teilen reiner Ameisensäure (die Mischung muß dreimal gekocht werden), 40—55 Minuten lang. Auswaschen in destilliertem Wasser. Übertragung in eine Mischung von reiner Ameisensäure, 10 Teile, und destilliertem Wasser, 40 Teile. Reduktion am Licht 36 Stunden lang. Aufbewahren in Spiritus im Dunkeln.

616. Negro (87) empfiehlt, namentlich für Eidechse und Frosch, Hämatoxylin, um an frischen Muskeln in wenigen Minuten die Nervenenden sichtbar zu machen.

617. Gad (95) teilte folgende Methode von Sihler zur Darstellung der Nervenenden in den quergestreiften Muskeln mit: Muskelbündel in der Dicke eines Gänsekieles werden auf etwa 18 Stunden in

1. Gewöhnliche Essigsäure	1
Glyzerin	1
Chloralhydratlösung 1% wässerig .	6

eingelegt, in reinem Glyzerin weiter gezupft und dann in die Färbeflüssigkeit

2. Ehrlichsches Hämatoxylin . . .	1
Glyzerin	1
Chloralhydratlösung 1%ige . . .	6

übertragen, worin die Stücke 3—10 Tage verweilen. Die Stücke werden nun in Essigsäure-Glyzerin eingelegt, worin

die Farbe differenziert wird und zwar so, daß die Nerven und Nervenenden an den Muskeln und Gefäßen intensiv tingiert werden, das übrige hell erscheint. Aus der Farbe 2 kann man die Stückchen in reinem Glyzerin aufheben und erst später mit Essigsäure (Lösung 1) behandeln. Nach Sihler auch von Balter für sensible Organe des Muskels empfohlen.

618. Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äußerst unsichere.

Literatur zu Kap. 7: Ranvier (78 und 80).

619. Für Behandlung der Schnitte mit Goldchlorid verfährt **Nabias** (04) in folgender Weise: Schnitte, Objekten entnommen, welche in Alkohol, Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure fixiert wurden, werden mit Wasser geklebt und auf dem Objektträger entwässert. Man unterwirft sie den folgenden Manipulationen. a) Behandlung mit Jodlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300—1000) wenige Minuten. b) Spülung mit Wasser. c) Behandlung mit 1% Goldchloridlösung 3—6 Minuten; die Schnitte werden weiß. d) Spülen mit destilliertem Wasser. e) Spülen in Anilinwasser (1 ccm Anilinöl auf 100—1000 Wasser). In 1 oder 2 Minuten werden die Schnitte violett. Man lasse aber die Schnitte nicht zu dunkel werden. f) Waschen mit destilliertem Wasser etc. Statt Anilinwasser wird auch Resorzin, 1:100:1000—10000 empfohlen. Unter anderem sind die Neurofibrillen deutlich gefärbt.

620. Merton H., 07, vergoldet Schnitte in folgender Weise: In Hermannscher Mischung fixiertes Material wird in Schnitte zerlegt und je 10 Minuten mit 3%iger Tanninlösung, 5%iger Brechweinsteinlösung, 1%iger Goldchloridlösung und Anilinwasser behandelt. Zwischen den einzelnen Lösungen werden die Schnitte mit dest. Wasser ausgewaschen.

621. Da die **Methode Bielschowskys,** wie er sie fürs Zentralnervensystem angab, außer den Neurofibrillen auch Bindegewebsfibrillen, welche im Zentralnervensystem fehlen, färbt, so kann man sie unverändert auf periphere Nervenendigungen im Bindegewebe nicht anwenden. Bielschowsky, 05, gab folgende Modifikation an. Stücke von ca. 1 cm Dicke werden, mit Formol fixiert, in dest. Wasser gewaschen und auf dem Gefriermikrotom 10 μ dick geschnitten, kommen dann 24 Stunden und länger in 2%ige Silbernitratlösung, dann auf 15 Minuten in eine

ammoniakalische Silberlösung, welche so bereitet wird, daß auf 5 ccm einer 10%igen Silbernitratlösung 5 Tropfen einer 40%igen Natronlauge kommen, dann tropfenweiser Zusatz von Ammoniak bis zur Lösung. Die Lösung wird bis auf 20 ccm verdünnt. In dieser Lösung bleiben die Schnitte 15 Minuten, bis sie dunkelbraun werden. Von hier überträgt man die Schnitte in Essigsäure, 5 Tropfen Eisessig auf 20 ccm Wasser, in welcher die Schnitte gelblich werden. Man überträgt die Schnitte in 20%ige Formollösung und hält sie in dieser, bis sich noch weißliche Wolken aus ihnen entfernen. Die Reduktion ist nun beendigt. Jetzt werden die ganz blassen Schnitte vergoldet, und zwar in neutralem Goldbad, 5 Tropfen Goldchlorid von 1% auf 10 ccm Wasser; hier bleiben sie, bis der Grundton rotviolett wird — etwa 1 Stunde. Die Lösung der nicht reduzierten Lösung geschieht in 5%iger Natriumthiosulfatlösung. Nach sorgfältigem Waschen in dest. Wasser wird durch Karbolxylol (10%ig) in Kanadabalsam eingeschlossen.

Auch für diese Zwecke ist die Behandlung in Blöcken zulässig, nur die einzelnen Operationen müssen länger ausgeführt werden.

Mit dieser Methode lassen sich z. B. Meißnersche, Grandrysche Körper, motorische Nervenenden in quergestreiften Muskeln usw. darstellen.

622. Die sogenannte **vitale Methylenblau-Färbung** von P. Ehrlich (85) zuerst angegeben, mit welcher man Nerven in fast allen Organen — außer dem Zentralnervensystem, relativ sicher darstellen kann, ist in der letzten Zeit genau von Dogiel (02, 03) im Zusammenhange geschildert worden. —

Um die Nerven zu färben, verfährt man, indem man Methylenblaulösung A) in die Blutgefäße eines eben getöteten Tieres injiziert, B) in sonstige natürliche Höhlen, oder C) durch Einstich in das subkutane Bindegewebe oder Bindegewebe eines anderen zu untersuchenden Organes einführt, D) indem man Organe, resp. Organteile, unmittelbar mit Methylenblau färbt. —

In allen Fällen gebraucht man Methylenblau (bezogen von Dr. Grübler in Leipzig unter der Marke »für vitale Färbung«) gelöst in 0,75%iger chemisch reiner Kochsalzlösung in destilliertem Wasser. Man nimmt für A) eine $^1/_4$—$^1/_6$%ige Methylenblaulösung; für B) $^1/_4$—$^1/_8$%ige; für

C) eine $^1/_6$—$^1/_8$ %ige und für D) eine $^1/_4$—$^1/_6$—$^1/_8$ %ige Lösung. Die Lösungen dieser Konzentrationen können leicht aus einer 1 %igen Methylenblaulösung hergestellt werden. —

A) Die Blutgefäße der Organe oder die des ganzen Tieres, wenn dasselbe klein ist, werden mit physiologischer Kochsalzlösung, welche auf 37 ° C gewärmt ist, ausgespritzt, und erst dann wird eine ebenso gewärmte Methylenblaulösung injiziert. Nach 20—30 Minuten werden ganze Organe oder, wenn sie größer sind, 1—2—3 cm große Stücke derselben herausgeschnitten und auf Glaswolle, welche mit $^1/_5$—$^1/_{15}$ %iger Methylenblaulösung gut angefeuchtet ist, in eine flache Schale übertragen; diese schließt man mit einem nicht fest schließenden Deckel, um den Luftzutritt zu ermöglichen, und stellt sie in einen auf 36 ° C gewärmten Thermostaten. Nach 10—30 Minuten oder, bei größeren Stücken, nach 1, $1^1/_2$, 2 Stunden werden die Präparate aus dem Thermostaten herausgenommen und, wie weiter unten angegeben, fixiert. —

Sind die Organe konsistent, so mache man davon 15 Minuten nach der Methylenblau-Injektion Rasiermesserschnitte und behandle sie in ähnlicher Weise, d. h. befeuchte mit $^1/_{15}$ %iger Methylenblaulösung und setze in einer feuchten Kammer in den Thermostaten. Alle 5 Minuten werden die Schnitte mit dem Mikroskop angesehen, um die Nervenfärbung zu kontrollieren. —

Bei Kaltblütern wird die ganze Prozedur bei Zimmertemperatur ausgeführt: man injiziert $^1/_4$—$^1/_8$ %ige Lösung; nach $^1/_2$—1—2 Stunden wird das zu untersuchende Organ freigelegt und nach 20—30 Minuten herausgeschnitten, um fixiert zu werden. Methylenblau wird unter Luftabschluß zu farbloser Leukobase, welche in Berührung mit Sauerstoff der Luft wieder blau wird. Einige Forscher führen in diesem Stadium des Verfahrens Sauerstoff zu. — Bei der Methode B) und C) verfährt man mutatis mutandis in analoger Weise wie bei A).

D) Ganze Organe oder Stücke derselben von 1—2 cm Größe, in einzelnen Fällen sogar von größeren Dimensionen, werden herausgeschnitten und auf den mit Glaswolle bedeckten Boden einer flachen Schale gebracht und mit Methylenblau benetzt; nachdem man die Schale mit einem nicht luftdicht schließenden Deckel bedeckt hat, bringt man das Ganze in einen Thermostaten (36 ° C); in demselben

verbleibt das Präparat 1—2, höchstens $2^1/_2$ Stunden und wird dann fixiert. Während das Präparat im Thermostaten verweilt, wird es von Zeit zu Zeit mit einer $^1/_{15}$ %igen Methylenblaulösung befeuchtet, damit es nicht eintrocknet. Auch bei dieser unmittelbaren Färbung wird an Kaltblütern bei Zimmertemperatur operiert. —

Von derben Organen, wie z. B. die Wachshaut des Schnabels oder der harte Gaumen von Wasservögeln, werden Schnitte mit Rasiermesser hergestellt und auf einem Objektträger mit $^1/_6$—$^1/_8$ %iger Methylenblaulösung benetzt, in einer feuchten Kammer wie oben gefärbt; die Schnitte dürfen nicht schwimmen und müssen vor Verdunstung durch Befeuchten geschützt werden. Die Färbung geht hierbei sehr rasch, in 10—15—20 Minuten vor sich; dann wird fixiert. —

Bei allen diesen Methoden sind kleine Modifikationen, welche dem Charakter des ganzen Verfahrens nicht zuwider sind, selbstverständlich zulässig.

Hat man nun nach einer der vorgetragenen Methoden die Nerven mit Methylenblau gefärbt, so muß die sonst vergängliche Färbung fixiert werden. Dazu gebraucht man entweder pikrinsaures oder molybdänsaures Ammonium, oder beide Salze nacheinander. —

623. Um mit **pikrinsaurem Ammoniak** (von Grübler bezogen, explodiert beim Erhitzen!) zu **fixieren**, verwendet man eine konzentrierte wässerige Lösung. Wenn die Nerven intensiv genug mit Methylenblau gefärbt erscheinen, überträgt man die Präparate in nicht zu wenig der eben erwähnten Lösung auf 2—6—12—24 Stunden, je nachdem die Stücke groß waren, auf keinen Fall aber länger wie 48 Stunden. Dann wird in Glyzerin und Fixierungsflüssigkeit zu gleichen Teilen eingeschlossen. — Sind die zu untersuchenden Präparate zu undurchsichtig und dick, so muß man sie in zweckmäßiger Weise mit Nadeln, Pinzetten und Scheren zerteilen, indem man sie zupft, aufschneidet in Lamellen zerreißt usw.

Fügt man zu 100 ccm der Fixierungsflüssigkeit 1—2 ccm einer 2 %igen Osmiumsäure hinzu, so kann man die Präparate nachträglich mit Pikrokarmin färben und wie vorhin einschließen.

624. Molybdänsaures Ammonium gebraucht man zur Fixation von Methylenblaupräparaten in 5—8 %iger Lösung bei Zimmertemperatur. Die gefärbten Präparate

kommen sofort in ziemlich viel Fixierungsflüssigkeit, je nach der Größe auf 10 Minuten bis 24 Stunden; langer Aufenthalt in derselben schadet den Präparaten nicht. Dann wäscht man die Präparate in einer großen Menge destillierten Wassers, welches man, wenn nötig, wechselt, und überträgt sie in absoluten Alkohol, worin sie nur möglichst kurze Zeit, nicht länger als gerade zur Entwässerung nötig ist, verweilen dürfen, jedenfalls nicht länger als 6 Stunden. Durch Xylol kann man sie nun in Kanadabalsam einschließen. Um die histologischen Elemente besser zu erhalten, setzt man zur Fixationsflüssigkeit Osmiumsäure hinzu, und zwar 4—6 Tropfen einer 1%igen Lösung auf 100 ccm; die Weiterbehandlung bleibt im übrigen die gleiche. —

Will man fixierte Stücke mikrotomieren, so überträgt man sie aus dem absoluten Alkohol in eine mitteldicke Zelloidinlösung auf ein paar Stunden, klebt sie auf einen Holzblock und härtet das Ganze in 70%igem Spiritus. Will man nicht sofort schneiden, so hebt man die Blöcke in Wasser, worin die Färbung 2—3 Tage lang nicht alteriert wird (Markovitin). Will man in Paraffin schneiden, so fixiere man nach Bethe, § 625. Die Paraffineinbettung jedoch greift die Farbe unter Umständen doch sehr an.

Das 1. Fixationsverfahren wird bei dickeren Präparaten und der Retina, das 2. bei dünnen Flächenpräparaten und bei Präparaten, welche in Schnitte zerlegt werden, angewandt. Man kann, wenn man z. B. in pikrinsaurem Ammoniak fixierte Objekte schneiden will, diese nachträglich in molybdänsaures Ammonium überführen, kombinierte Fixierung.

625. Um Methylenblaupräparate zu fixieren, empfiehlt Bethe (**95**) folgendes Gemisch: **Ammoniummolybdat** — 1 g, destilliertes Wasser — 10 ccm, **Wasserstoffsuperoxyd** — 1 ccm und offiz. Salzsäure — 1 Tropfen. In dieser Flüssigkeit bleiben die Stücke, bei einer Temperatur von + 2 bis — 2° C, je nach ihrer Größe, kleinere 2—3, größere (bis 1 ccm) 4—5 Stunden, hernach noch einige Zeit bei Zimmertemperatur. Sie werden dann $^1/_2$—2 Stunden in destilliertem Wasser gewaschen, mit kaltem Alkohol entwässert und in Paraffin oder Zelloidin eingebettet. Eine Nachfärbung mit Alaunkarmin oder mit Anilinfarben ist zulässig. Setzt man nach einiger Zeit der Fixierungsflüssig-

keit Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblaufärbung dunkler und alkoholbeständiger.

626. Weiter empfiehlt Bethe (**96**), namentlich — um die niedere Temperatur der vorigen Methode zu umgehen — folgende Verfahren: nach dem Vorgang von Smirnow und Dogiel benutzt er als Vorfixierungsflüssigkeit eine konzentrische wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium (Ammoniumpikrat), in welcher die mit Methylenblau behandelten, nicht zu großen Objekte 10—15 Minuten verweilen. Ohne zu spülen, überträgt man dicke Objekte (für Totalpräparate) 1. in **Ammoniummolybdat** (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 20 ccm und offiz. Salzsäure 1 Tropfen. Für dieselben Zwecke dienen auch weitere Mischungen. 2. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser — 10 ccm, 2%ige **Chromsäurelösung** — 10 ccm und Salzsäure — 1 Tropfen. Für Schnittzwecke oder bei sehr dünnen Totalpräparaten wende man 3. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser — 10 ccm, $^1/_2$%ige Osmiumsäure — 10 ccm und Salzsäure 1 Tropfen, an. In sub 1. und 2. genannten Flüssigkeiten belasse man kleine Objekte $^3/_4$—1 Stunde (nicht länger), in sub 2. angegebenen 4—12 Stunden. Nach dem Fixieren wird in Wasser gewaschen, in Alkohol übergeführt und durch Xylol in Paraffin eingebettet. Eine Nachfärbung mit Alaunkarmin, Alauncochenille oder mit neutralen Anilinfarben kann ausgeführt werden.

8. Kapitel. **Rückenmark, Gehirn und Ganglien.**

627. Das ganze Nervensystem kleinerer Tiere, oder Teile davon größerer, kann man isoliert darstellen, indem man 20%ige rauchende Salpetersäure ca. 3 Tage anwendet und dann die Präparate wässert. »Läßt man ein Neunauge (z. B.) 3 Tage in dieser Flüssigkeit (20%ige rauchende Salpetersäure, Reichert) liegen und wässert dasselbe einen Tag lang aus, so ist fast sämtliches Bindegewebe bis auf rein zellige Elemente aufgelöst.« Zieht man die Haut ab und entfernt mit Pinzette und durch vorsichtiges Schütteln die Muskeln usw., so läßt sich das ganze Nervensystem isolieren, und die Nerven bleiben in Zusammenhang. Langerhans.

628. Beim Herausnehmen des Gehirns und Rückenmarks verfahre man so, daß man zuerst Haut und Muskeln in den betreffenden Partien möglichst vollständig ent-

fernt. Der Rückenmarkskanal wird dann mit einer Knochenzange eröffnet, die Schädelhöhle kann bei kleinen Tieren, z. B. manchen Fischen, Fröschen etc., mit dem Messer, bei jungen Meerschweinchen, Kaninchen der Hauptsache nach mit einer starken Pinzette eröffnet werden; soweit dies möglich ist, ergibt es meist bessere Resultate, als wenn bei kleineren Tieren die Anwendung von Knochenzange oder Säge nötig wird. Ist das Gehirn, resp. Rückenmark, freigelegt, so geht der Herausnahme der Teile das Durchschneiden der zugehörigen Nerven voraus. In die Fixierungsflüssigkeit werden die Stücke auf Glaswolle oder Wattebäusche eingelegt oder an einem weißen Faden eingehängt. Gehirn und Rückenmark großer Säugetiere, die man sich aus dem Schlachthaus verschaffe, geben auch noch, wenn sie erst wenige Stunden nach dem Tode des Tieres eingelegt werden, wenigstens gute Orientierungsbilder. Geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind hierfür Kalium bichromicum, Müllersche Flüssigkeit, auch Alkohol, und bei frischen Präparaten Sublimat.

629. Um Ganglienzellen zu isolieren, hat man eine Reihe von Methoden angegeben, die das mühsame Herauszupfen erleichtern. Nach Levi (04) haben große Tiere und die Katze sehr große Ganglienzellen.

630. Eine 1 ‰ige Osmiumsäure oder $^1/_3$ Alkohol (siehe § 369) wird in das Vorderhorn des Rückenmarks durch Einstechen injiziert, die so fixierte Stelle herausgeschnitten, gezupft und in Glyzerin eingeschlossen.

631. Kleinere Stücke, z. B. aus den Vorderhörnern des Rückenmarks, werden herausgeschnitten und mazeriert. Dazu können folgende **Isolations-Flüssigkeiten** verwendet werden, in welche Stückchen bis zu $^1/_2$ ccm eingelegt werden:

632. $^1/_3$ Alkohol 1—2 Wochen (Ranvier).

633. Jodserum, Max Schultze (64), 24 Stunden.

634. 0,5—0,25 ‰ige Chromsäure auf 3, 5 Tage und länger.

635. 1 ‰ige Kalium bichromicum-Lösung 2 Wochen und länger.

636. 1 ‰ige Osmiumsäure 24 Stunden und länger.

Durch Schütteln oder Zupfen lassen sich dann die Ganglienzellen isolieren. Die Präparate werden in Wasser oder Glyzerin untersucht, sie können vorher durch Zusatz zum Glyzerin, von etwas Eosin z. B., gefärbt werden.

637. Die Ganglienzellen sind der Fäulnis gegenüber sehr resistent; man kann geradezu graue Substanz in Wasser

oder sehr verdünnter Chromsäure faulen lassen und dann Ganglienzellen mit langen Fortsätzen durch Zupfen isolieren »und sie entziehen sich unseren Blicken, wenn die Verwesung eine ganz unkenntliche Masse erzeugt hat.« Falk.

638. Gewisse Strukturen, auf die man bis jetzt nur wenig achtete, lassen sich relativ leicht in den Ganglienzellen darstellen. **Nißl** (95) und Flemming (95b S. 380 Anm. 6). An in Alkohol fixierten Präparaten, welche in Thionin gefärbt wurden, oder an in Alkohol oder Sublimat behandelten, mit nachträglicher Färbung mit basischen Anilinfarben (siehe § 272) oder Hämatoxylin sieht man **tingible Körper** in den Ganglienzellen deutlich abstechen.

639. Die Nißlsche Methode, um seine Äquivalentbilder von Ganglienzellen zu erzeugen, Nißl, 91a, 03, besteht in folgendem: Objekte in Würfelform, nicht unter 1 cm Seite, werden mit einer scharfen Schere herausgeschnitten und mit oft zu wechselndem Spiritus von 96% mindestens 5 Tage lang gehärtet, dann werden sie auf Kork oder Holzklotz mit Fischleim oder Gummi aufgeleimt und ohne vorherige Durchtränkung mit Spiritus von 96% befeuchtet, geschnitten; die Schnitte werden in einem Uhrschälchen mit einer mindestens 1/4 Jahr alten Lösung von Methylenblau B-Patent 3,75 g, geschabter venezianischer Seife 1,75 g, gelöst in 1000 ccm dest. Wassers — gefärbt, dabei erwärme man die Lösung bis Blasen aufsteigen. Man differenziert die Schnitte in wasserhellem Anilinöl 10 ccm, Spiritus von 96% 90 ccm, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen. Der auf den Objektträger gebrachte Schnitt wird mit Fließpapier getrocknet, mit Kajeputöl aufgehellt, wieder mit Fließpapier getrocknet, mit Benzin geschwemmt, um das Öl zu vertreiben, und in Xylol-Kolophonium, Kolophonium, in Xylol gesättigte, filtrierte Lösung darauf gebracht. Der Objektträger wird durch die Flamme gezogen (Vorsicht!), bis Xylol verdunstet ist. Man bedecke nun noch heiß mit einem heiß gemachten Deckglase. Da diese Methode eine konventionelle ist und die mit ihr hergestellten Präparate Nißl miteinander vergleicht, so hat sie nur Wert, wenn sie peinlichst genau eingehalten wird und womöglich unter ganz gleichen Bedingungen gehandhabt wird. Resultate: Distinkte Färbung der Nißlschen Körper. Durch andere Methoden hergestellte Bilder der Granula in den Ganglienzellen decken sich selbstverständlich mit denen der Nißlschen Äquivalentpräparate nie ganz.

640. Für **Granula der Ganglienzellen** empfiehlt Cox (98), in einer der drei folgenden Mischungen zu fixieren:

Mischung 1: Sublimat gesättigt 30, 1%ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;

» 2: Sublimat gesättigt 15, 5%iges Platinchlorid 15, 1%ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;

» 3: Sublimat gesättigt 30, Formol 10, Eisessig 5.

Einwirkung 2—3 Tage, Auswaschen, 60, 70, 90, 98%iger Alkohol, Alkohol-Bergamottöl, Bergamottöl, Paraffin-Bergamottöl, Paraffin. Aufkleben mit Wasser-Eiweiß. Paraffin wird mit Xylol entfernt, Alkohol, dann in Tannin von 20—25% auf 8 Stunden, dann 5 Minuten waschen, dann

entweder in Eisenoxyd-Ammonium-Sulfat (2,5%) 5—10 Minuten lang,

dann in I: Phenol (2%ig) 15, dazu 1—2 ccm von folgendem, 5 Minuten lang auf dem Wasserbade zu kochendem Gemisch: Methylenblau 2, Kalium-Karbonat 2, Wasser 200,

oder in Brechweinstein (5%ig) 5—10 Minuten lang,

dann in II: ein Gemisch von 5%igem Alaun 10, 5%igem Indoidinblau BB 20 (resp. besser: Baumwollblau BB) (Anilin- und Sodafabrik E. Merk, Ludwigshafen).

In Flüssigkeit I oder II wird 12—18 Stunden gefärbt, dann in vielem Wasser abgespült; die Schnitte werden mit Filtrierpapier getrocknet, mit einer Mischung von Xylol 90 zu 95%igem Alkohol 60, dann mit reinem Xylol behandelt und in Kanadabalsam (unverdünnt durch Erwärmen flüssig gemacht) eingeschlossen. Ist die Färbung zu stark, so entfärbt man mit Unnas Alaun-Anilin (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 12, p. 560).

Ist mit Mischung 3 fixiert worden, so färbe man mit Methylenblau (obiges Rezept) ohne Beize 24 Stunden, dann Wasser, Xylol-Alkohol etc.; auch Delafieldsches Hämatoxylin färbt in diesem Falle gut.

641. Bielschowsky und Plien färben die Nißlschen Granula mit **Cresylviolett RR,** 6—8 Tropfen einer wässerigen, konzentrierten Lösung auf 50 ccm Wasser, 24 Stunden.

642. Lugaro fixiert in einer Mischung von Salpetersäure 5 und abs. Alkohol 100 Teile 48 Stunden. Nach Behandlung mit Alkohol färbt er Paraffinschnitte mit **Toluidinblau** 1:2000 und fixiert die Farbe in 4%iger Ammoniummolybdatlösung.

643. Zur Darstellung des **Golgi-Netzes** in Ganglienzellen fixiert Kopsch (02) Spinalganglien in 2%iger Os-

miumsäure. Die Netze fangen schon am 5. Tage an, sich zu färben, erreichen aber das Optimum am 8. Tage. Für Ganglien des Hundes und der Katze 14 Tage. Bei Überfärbung wende man Terpentinöl an, 36—48 Stunden. Von Bergen.

644. Sjövoll stellt die Golgi-Netze dar, indem er die Ganglien in 10% ige Formollösung bei 5—7° C 8 Stunden einlegt, mit Wasser 5 Stunden und dann mit 2prozentiger Osmiumsäurelösung bei 35° 2 Tage lang behandelt. Frische der Formollösung und Einwirkung derselben unter Abschluß des Lichtes sind Bedingungen eines guten Erfolges.

645. Lenhossék (98) und Holmgren (99) empfehlen die unverdünnte Rablsche Lösung (s. § 80); für Nervenzellenfärbung: Toluidin und Erythrosin (wird wie Eosin angewandt). Intrazelluläre Kanälchen werden sichtbar.

Um die **Kanäle in den Ganglienzellen** sichtbar zu machen, wendet Holmgren (01) die folgende Methode an: 1. Fixierung 8—24 Stunden in 5%iger Trichlormilchsäure; 2. Behandlung mit ansteigendem Alkohol von 40, 50, 70, 80, 90% je 24 Stunden, 3. abs. Alkohol und Paraffineinbettung, 4. Schneiden 2—5 μ dick, 5. Färbung nach Weigert (Elastinfärbung § 461), 6. Kanadabalsam.

646. Um grobe **Ganglienzellen-Fortsätze und Nervenfaserzüge** im Zentralnervensystem darzustellen, ist die alte Methode von Gerlach (71, 72) noch immer zu empfehlen. Schwalbe (01) hat neuerdings darauf aufmerksam gemacht, daß die Färbung in einer lange gestandenen, stark verdünnten ammoniakalischen Karminlösung (1 g Karmin auf 100 g Wasser, Salmiakgeist bis zur Lösung eintröpfeln und die Lösung alt werden lassen, bis der Ammoniakgeruch fast schwindet), nur dann gelingt, wenn man die Schnitte vor der Färbung 14 Tage mit Müllerscher Flüssigkeit oder 1—2 Tage mit 1% Chromsäure im Brütofen behandelt; gefärbt wird 24 Stunden.

647. Ich füge hier im Kleindruck Notizen von Forel (77) bei, welche die Anwendung der **Gerlachschen Methode** näher behandeln.

Um eine gute Karminfärbung zu erzielen, müssen die Zentralnerventeile in Kaliumbichromat fixiert werden, und man muß peinlichst vor der Färbung den Alkohol vermeiden. — Am schnellsten lassen sich Großhirn, am längsten Medulla und Rückenmark, mittellang Kleinhirn, Pons und oberer Teil der Medulla oblongata fixieren.

Die Fixierungsdauer ist sehr verschieden:

Kanarien- oder Froschhirn in wenigen Wochen fixiert, Menschenhirn und vor allem Menschenrückenmark braucht Monate, ja Jahre und konzentrierte Lösung dazu.

Die Härtungszeit ist durchaus nicht der Größe des Hirnes proportional.

Schimmelbildung wird vermieden durch Härtung im kühlen Keller. Um gute Färbung zu erzielen, muß das Präparat nicht zu wenig und nicht zu viel (spröde) gehärtet sein.

Dünne Schnitte richtig gehärteter Präparate werden

1. einige Stunden in Wasser gewaschen;
2. das Wasser wird durch in der Luft durch langes Stehen neutral gewordene ammoniakalische Karminlösung ersetzt.

NB. Das Färbungsvermögen der Lösung muß erst ausprobiert werden und man richtet durch passendes Verdünnen das Färben so ein, daß die Schnitte 12—24 Stunden im Karmin verbleiben.

Die Karminlösung kann unzählige Male gebraucht werden: sie wird mit der Zeit eher besser.

Nach der Tinktion werden die Schnitte mit leicht mit Essigsäure angesäuertem Wasser 1—2 Stunden behandelt; Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Resultate: Gefäßkerne, Körner der Hirnsubstanz, die Ganglienzellen mit allen ihren Fortsätzen (auch dem Nervenfortsatz der großen Zellen), sowie der Achsenzylinder der Nervenfasern, intensiv rot gefärbt. Die Zwischensubstanz ist heller rot oder rosa gefärbt. Die Markscheide der Nervenfasern bleibt ganz weiß oder gelb. Die Kerne und Nucleoli der Zellen sind dunkler gefärbt als das Protoplasma.

Wendet man aber Alkohol vor der Färbung an, so färbt sich das Ganze ganz anders: die Färbung tritt rasch ein, und die Zwischensubstanz färbt sich am intensivsten.

648. Für Achsenzylinder bediene man sich folgender Methode von Schmaus, welche Chilesotti modifiziert hat. 1 g **karminsaures Natron** wird mit 0,1 g Uran. nitr. verrieben, $^1/_2$ Stunde mit 100 ccm Wasser gekocht, filtriert und vor dem Gebrauche angesäuert (2 Tropfen eines 1%igen salzsauren Alkohols auf 1 ccm Farbe). Vor dem Färben können die Schnitte mit Müllerscher Flüssigkeit oder Weigertscher Neuroglia-Beize behandelt werden. Man färbt etwa 1 Stunde lang. Ist eine Überfärbung eingetreten, so taucht man die überfärbten Schnitte in $^1/_2$% salzsauren Alkohols ein.

649. Die Fasern der weißen Substanz, wie auch die in peripheren Nerven (§ 594) lassen sich (in kleinsten Stückchen) mit Silbernitrat behandeln und zeigen dann **Frommannsche Linien.**

650. Für Rückenmark leistet (Ganglienzellen und grobe Fasern) eine weitere **Methode,** die ebenfalls von **Gerlach** (67, 71/72) herrührt, Hervorragendes. Rückenmark vom Kind wird in einer 1—2%igen, doppeltchromsauren Ammoniaklösung 2—3 Wochen lang fixiert, geschnitten und in eine Goldchloridkaliumlösung 1 auf 10000, welche mit Salzsäure ganz schwach angesäuert ist, auf 10—12 Stunden gelegt. Es werden die Schnitte in $^1/_2$—$^1/_3$‰iger Salzsäure gewaschen und kommen in 60%igen Alkohol mit 1‰iger Salzsäurelösung auf 10 Minuten.

Nachdem das Präparat durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Kanadabalsam übergeführt ist, sieht man die Nerven erst blaß, nach einigen Stunden sehr deutlich. Die Färbung nach dieser Methode ist aber keine so sichere, und es dunkeln die Präparate oft in Kanadabalsam so nach, daß sie unbrauchbar werden.

651. Ströbe (93) empfiehlt zur Achsenzylinderfärbung im zentralen und peripheren Nervensystem: 10 μ dicke Zelloidinschnitte von in Müllerscher Flüssigkeit 4—5 Monate fixierten Präparaten werden in gesättigter, wässeriger Anilinblaulösung 10 Minuten bis $^1/_2$ bis 1 Stunde gefärbt, Abspülen in Wasser, Differenzierung in Ätzkali-Alkohol (1 g Kali causticum in 100 ccm Alkohol 24 Stunden stehen lassen, davon 20 bis 30 Tropfen auf 100 ccm Alkohol), bis sie hellbraunrot geworden sind (eine bis mehrere Minuten), destilliertes Wasser 5 Minuten (hier werden die Schnitte blau), Nachfärbung in konzentrierter wässeriger Safraninlösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist; $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang. Alkohol absolutus, Xylol, Kanadabalsam. — Resultat: Achsenzylinder blau, Markscheide farblos mit blauen Pünktchen, Schwannsche Scheide rot.

Für Färbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer in den Zentralorganen hat Golgi folgende Methoden angegeben:

652. Sublimatmethode. Golgi (94) behandelt frische Stücke der Zentralorgane von 1—2 cm Durchmesser 2—3 Wochen lang mit der Müllerschen Flüssigkeit oder mit doppeltchromsaurem Kalium allein, letzteres in von 3 auf 5% ansteigender Lösung. Es kommen weiterhin die Stücke in eine $^1/_4$- bis $^1/_2$%ige Sublimatlösung, die oft zu wechseln ist, auf 8—10 Tage und darüber. Sie können nun geschnitten, gut gewaschen und entweder in Glyzerin oder Balsam aufbewahrt werden. Besonders günstig für diese Methode ist die Großhirnrinde.

Es sind jedoch die Resultate der Methode nicht konstant, es färben sich, wie auch bei den folgenden Golgischen Methoden, einmal Ganglienzellen, ein anderes Mal die Gliazellen und die Gefäße. Das Gefärbte erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz.

Pal empfiehlt, um die Schnitte reiner zu erhalten, die Nachbehandlung derselben mit Natriumsulfid. Auch die Präparate, die statt mit Sublimat mit Silbernitrat (siehe unten) behandelt worden sind, werden nach Pal mit Vorteil mit Natriumsulfid ($^1/_2$—1 %) abgespült.

653. Cox (90 und 91) empfiehlt folgende **Methode:** Nicht zu große Stücke der nervösen Zentren werden mit

5 %iger Lösung von Kalium bichromicum	20 Teile
5 %iger Lösung von Sublimat	20 »
Aqua destillata	30—40 »
8 %iger Lösung von chromsaurem Kalium (von starkalkalischer Reaktion) . . .	16 »

2—3 Monate lang im Winter und mindestens einen Monat im Sommer behandelt. Kürzere Behandlung mit Alkohol (Stunden). Bei jungen Tieren geht die Methode besser wie bei ausgewachsenen (am besten beim einen Monat alten Kaninchen). — Färbt in erster Linie marklose Fasern.

G. Günther (vgl. Schaffer, 96) beläßt die Stücke auf acht Tage in Coxscher Lösung im Thermostat bei Körpertemperatur, wäscht sorgfältig aus, behandelt eventuell länger mit Alkohol und durchtränkt mit Zelloidin. Eine nachträgliche Reduktion der Schnitte in Goldchlorid oder schwacher Ammoniaklösung (zwei bis drei Tropfen auf ein Uhrglas Wasser) durch fünf Minuten macht die imprägnierten Ganglienzellen und Nervenfasern so widerstandsfähig, daß die Schnitte nachgefärbt, allenfalls mit verdünnten Säuren behandelt und unter dem Deckglas eingeschlossen werden können.

654. Eine weitere Methode **Golgis** (94), bei welcher die Färbung auf Bildung **dichromsauren Silbers** beruht, besprechen wir eingehender, indem wir zunächst dem Autor selbst folgen:

Im Jahre 1875 gebrauchte Golgi seine Methode in folgender Weise: Er fixierte (Bulbus olfactorius) in Müllerscher Flüssigkeit, wobei er den Gehalt an chromsaurem Kali beim Wechseln der Flüssigkeit etwas erhöhte (bis 4 g). Die Fixierung dauerte im Sommer 5—6 Wochen, im Winter 3—4 Monate und darüber. Dann behandelte er Stücke der Objekte (nach 3 Monaten im Winter und nach 30—40 Tagen im Sommer) alle 4—5 Tage probeweise mit Silbernitrat (von $^1/_2$—1 %). Im Sommer dauerte die Versilberung 24, im Winter 48 Stunden. Es ist aber ein längeres Verweilen im Silber zulässig. Diese Methode ist insofern als eine kapriziöse zu bezeichnen, als man die Zeit

des Verweilens der Stücke in der Müllerschen Flüssigkeit ganz genau abpassen muß, da die Zeit der Einwirkung von der Temperatur in Abhängigkeit steht. Ist einmal die Silberreaktion eingetreten, so können die Stücke entweder in der Silberlösung selbst oder in Alkohol weiter aufbewahrt werden. Die Objekte werden geschnitten, in abs. Alkohol ausgewaschen, mit Kreosot aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Die Färbung geht in kurzer Zeit verloren.

Im Jahre 1885 hat Golgi weiteres über seine Methode mitgeteilt, indem er für die Fixierung neben der Müllerschen Flüssigkeit auch das reine doppeltchromsaure Kali empfahl. Es werden 1—1½ ccm große Stücke des Hirns und Rückenmarks, am besten frisch getöteter Tiere, verwendet (mitunter gelingt die Reaktion auch 24—48 Stunden nach dem Tode). Man fixiere in Kaliumbichromat in allmählich steigender Konzentration (von 2—5 %) in nicht zu wenig Flüssigkeit und in gut verschlossenen Gefäßen. Selbstverständlich muß die Flüssigkeit oft erneuert und, um Schimmelbildung zu vermeiden, ihr Kampfer oder Salizylsäure zugefügt werden.

Es ist nun sehr schwer zu bestimmen, wann die Fixierung in Kaliumbichromat ihren für die spätere Einwirkung des Silbernitrats günstigsten Zeitpunkt erreicht hat, was von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit in Abhängigkeit steht. Man ist also auch hier auf das Ausprobieren angewiesen. Man kann etwa nach 6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Diese Versuche wiederhole man alle 8 Tage.

Auch hier ist die Silbernitratlösung ²/₃ %ig zu nehmen (etwa ½ Trinkglas auf 1 ccm Objekt). Zuerst entsteht ein üppiger Niederschlag. Die Silberlösung muß dann gewechselt werden, eventuell nach einigen Stunden noch einmal. Nach 24 bis höchstens 48 Stunden ist die Behandlung gewöhnlich zu Ende, worauf die Schnitte rasch mit absolutem Alkohol entwässert, in Kreosot aufgehellt und ohne Deckglas in Kanadabalsam aufgehoben werden.

Heute sind vor allem zwei Modifikationen der Golgischen Methode gebräuchlich, welche als die langsame und die rasche bezeichnet werden.

655. Bei der **langsamen Methode Golgis** werden die Stücke zunächst mit einer von 3 auf 5 % rasch ansteigenden Lösung von Kalium bichromicum, welches mehrmals gewechselt werden muß, behandelt. Die Dauer der Fixierung hängt von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit ab. Man ist daher auf Ausprobieren angewiesen. Man kann nach 4—6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge

hat oder nicht. Im letzteren Falle wiederhole man den Versuch alle 8 Tage. Die Stücke werden aus dem Kalium bichromicum in eine $^1/_2$- bis 1%ige salpetersaure Silberlösung übertragen, welche eventuell nach einigen Stunden noch einmal zu wechseln ist. Die Reaktion vollzieht sich meist in 20—30 Stunden. Dieses Verfahren gibt keine konstanten Resultate.

656. Rascheres Arbeiten gestattet folgende Methode **Golgis** (94): Die Stücke werden vorbehandelt in 8 Teilen einer 2%igen Kalium bichromicum-Lösung, gemischt mit einem Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung, und dann (schon nach 2—3 Tagen) in eine $^1/_2$ bis 1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen.

657. Ramon y Cajal (94b) hat letztere **Methode** folgendermaßen modifiziert: Die Stücke kommen auf 3 Tage in 3%ige Kalium bichromicum-Lösung, 4 Vol., 1%ige Osmiumsäurelösung, 1 Vol., und dann auf 1—2 Tage in eine $^3/_4$%ige Silbernitratlösung; nur für sehr kleine Stücke, namentlich für Zentralnervensystem von Embryonen, geeignet.

658. Gelingt die Golgische Methode nicht (dies gilt für alle Modifikationen), so kann man die Präparate in Kalium bichromicum-Osmiumsäure mit etwas schwächerem Osmiumsäuregehalt zurückbringen und nach 24 bis 48 Stunden abermals in Silber übertragen und diese Prozedur eventuell wiederholen.

659. Bei Anwendung des **Formols bei der Golgischen Methode** verfährt Kopsch (96) folgendermaßen: Kurz vor dem Gebrauch werden zu 40 ccm einer 3,5%igen Kalium bichromat-Lösung 10 ccm Formol gegossen; hierein kommen die Organstückchen, und zwar mehrere je bis zu 2 ccm Substanz auf 50 ccm Flüssigkeit. Bei größeren Stücken ist die Flüssigkeit nach 12 Stunden zu wechseln. Nach 24 Stunden wird die Flüssigkeit durch 3,5%ige Kalium bichromat-Lösung (ohne Formolzusatz) ersetzt. Übertragen in 0,75%ige Silberlösung für Leber, Magen § 573 u. 747 schon am zweiten Tag, für Netzhaut, wie für Zentralnervensystem, nach 3—6 Tagen. Statt Silbernitrat wendet H. Gudden das milchsaure Silber, Aktol an.

660. Es werden die Stücke in 40%igen und dann in absoluten Alkohol übertragen und geschnitten (die Paraffinmethode, in möglichst kurzer Zeit durchgeführt, ist nicht ausgeschlossen). Die Schnitte dürfen in Kanadabalsam

eingeschlossen, aber nicht mit einem Deckglase bedeckt werden. Man überträgt sie deshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Kanadabalsamlösung, welche rasch hart wird. Dieses Deckgläschen wird in ein hölzernes Rähmchen oder in einen durchbohrten Objektträger eingesetzt und die Schnitte von der Seite des Deckglases untersucht.

661. Weniger empfiehlt sich ein Verfahren, das allerdings rascher zu arbeiten gestattet, nämlich die Schnitte auf den Objektträger ohne Deckglas in Kanadabalsam einzuschließen. Einmal gestattet dies, nur mit schwacher Vergrößerung zu untersuchen, und auch hierbei stört die nie vollständig glatt bleibende Oberfläche der Kanadabalsamschicht.

662. E. Kallius (92) **reduziert** das chromsaure Silber direkt in metallisches durch den sog. »fünffachen Hydrochinonentwickler« (5 g Hydrochinon, 40 g Na. sulfurosum, 75 g Kalium carbonicum, 250 ccm Aq. dest.). Man nimmt von diesem Präparate 20 ccm auf 230 ccm dest. Wassers. (Diese Lösung hält sich wochenlang gut verschlossen im Dunkeln.) Mit dieser Lösung, welche vor dem Gebrauche mit $^1/_3$ bis höchstens $^1/_2$ des Vol. abs. Alkohols verdünnt wird, werden die Schnitte mehrere Minuten in einem Uhrschälchen behandelt, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden. — Um zu kontrollieren, ob die Reduktion vollendet ist, lege man einen Schnitt in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Na., worin alles chromsaure Silber gelöst wird (das reduzierte metallische aber nicht). Um die grauschwarze Färbung der Schnitte zu entfernen, verfahre man also: Aus der Hydrochinonlösung kommen die Schnitte auf 10—15 Minuten in 70%igen Spiritus, dann auf 5 Minuten in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Natron und zuletzt in eine größere Schale Aq. dest. auf längere Zeit bis 24 Stunden. Man darf die Schnitte dann entwässern und in Kanadabalsam überführen, oder aber färben (Karmin, Hämatox-, Naphthylaminbraun werden vorgeschlagen) und dann in Kanadabalsam einschließen. — Die Behandlung der Schnitte mit Kalilauge oder mit salzsaurem Alkohol ist ebenfalls zulässig.

Zu § 654—662 vergleiche auch Riese (91).

663. Kronthals (99) **Methode** als Ersatz für die Gogli-Ramon y Cajalschen.

Wenn man in eine wässerige Lösung von Plumbum aceticum langsam Ameisensäure eintröpfelt, so bilden sich

feine, weiße Kristallnadeln, die unter allmählichem weiterem Zutropfen von Ameisensäure schließlich das ganze Gefäß erfüllen. Dieses ameisensaure Blei ist im Wasser viel schwerer löslich als das essigsaure Blei, weshalb auch bei der Reaktion Essigsäure frei wird.

Von dem ameisensauren Blei wird die Flüssigkeit abfiltriert und der Rückstand in Wasser derart gelöst, daß es eine gesättigte wässerige Lösung von ameisensaurem Blei gibt. In ein Gemisch von gleichen Teilen dieser Lösung und einer 10%igen Formalinlösung (also mit 4% Formaldehydgehalt) bringe man jetzt die frischen, d. h. vorher in keiner anderen Flüssigkeit gewesenen Stückchen Gehirn oder Rückenmark für 5 Tage und übertrage sie dann, ohne auszuwaschen, direkt in ein Gemisch von gleichen Teilen 10%iger Formalinlösung und Schwefelwasserstoff-Wasser. »Man gieße von diesem Gemisch, um es nicht durch das Einwerfen der Präparate stark zu färben, vorher etwas über die Stückchen weg.« In dem Schwefelwasserstoff-Wasser-Formalingemisch bleiben die Präparate ebenfalls 5 Tage. Dann überführt man die Stückchen durch steigenden Alkohol in Zelloidin, schneidet, hellt mit Karbol-Xylol auf und hebt die Präparate in Xylol-Kanadabalsam unter Deckglas auf. Die Präparate halten sich unverändert. Die Färbung beruht auf Bildung von Schwefelbleiniederschlägen in den nervösen und Gliaelementen.

664. Corning (1900) teilt mit, daß er die Kronthalsche **Methode** an in 10%igem Formalin fixierten Material anwendet, jedoch mit folgender Modifikation: statt des ameisensauren Bleis, aus essigsaurem Blei und Ameisensäure hergestellt, wendet er Plumbum formicicum (bezogen von Merck in Darmstadt) an.

665. Alle vorher aufgezählten Imprägnationsmethoden, besonders die von Golgi und R. y Cajal, so viel sie auch in mancher Beziehung unzweifelhaft geleistet haben, haben große Nachteile. Weigert (95) schreibt darüber: »Alle Elemente des Zentralnervensystems, mit Ausnahme der Markscheiden, werden ja von der Golgischen Methode imprägniert: Nervenzellen mit ihren Dendriten und Achsenzylinderfortsätzen, Neurogliazellen und -Fasern, Ependymzellen, ja sogar Gefäße, freilich je nach der Dauer der Tinktion, jeder Bestandteil bald einzeln, bald in den verschiedensten, ganz unberechenbaren Kombinationen mit

einem oder mehreren der anderen . . . Bei der Golgischen Methode fallen die Strukturbilder wegen der Undurchsichtigkeit der Silberverbindung ganz oder so gut wie ganz fort; das gesamte imprägnierte System einer Zelle erscheint einfach als Silhouette. Selbst der Kern ist nur hier und da als hellerer Fleck angedeutet, ja sogar die Gefäße erscheinen oft nicht als hohle Röhren, sondern als solide Stränge.«

666. Semi Meyer empfiehlt folgende **Methode:** Mittelgroße Stücke werden in 4%iger Formollösung 24 Stunden fixiert, auf 8—20 Tage in 2½%ige Ferrocyankaliumlösung gebracht und dann 2—4 Tage lang mit Eisenalaun behandelt. Nachdem man die Stücke wenige Stunden mit destilliertem Wasser gewaschen hat, übertrage man sie in Alkohol und überführe, wie gewöhnlich, durch Xylol in Paraffin. Die Schnitte können beliebig nachbehandelt werden unter Vermeidung von Alkalien, da diese Berlinerblau zersetzen. Die Resultate sind nicht sicher und ähnlich wie die mit Golgischen Methoden erzielten; — es treten aber mitunter Fibrillen in den Ganglienzellen und Nervenfasern gefärbt auf.

667. Bethe (02, 03) gibt die folgende **Methode** für Darstellung von Neurofibrillen und Golgi-Netzen im Rückenmark und Gehirn auf Schnitten an:

1. Fixierung in 3—7,5%iger Salpetersäure von sp. G. 1,40 24 Stunden. 2. Übertragen direkt in 95%igen Alkohol, dann 3. in Ammoniak (sp. G. 0,95), 1 Teil in 3 Teilen Wasser und 8 Teilen 96%igen Alkohols gelöst auf 24 Stunden, daraus 4. auf 6—10 Stunden in 96%igen Alkohol, dann 5. auf 24 Stunden in Salzsäure (sp. G. 1,18) 1, Wasser 3 und 96%igen Alkohol 8—12 Teile, darauf 6. in 96%igen Alkohol 10—24 Stunden, 7. 2—6 Stunden dest. Wasser, 8. 4%iges Ammoniummolybdat 24 Stunden, 9. Alkohol von 96% 12—20 Stunden, abs. Alkohol etc. Geschnitten wird in Paraffin, geklebt mit Eiweiß, da Wasser Ammoniummolybdat löst. Die Fixierung darf bei einer Temperatur unter 20° C, wenn man Fibrillen, über 20° C, wenn man Golgi-Netze darstellen will, geschehen.

»Differenzierung: Nachdem die Schnitte durch Alkohol in Wasser gebracht sind, werden sie gut (nach Gariaeff nur wenig) mit destilliertem Wasser abgespült, dann der Objektträger unten gut trocken gemacht, eine Wasserschicht von ungefähr 1—2 cm auf die Schnitte geschichtet und der Objektträger so in den Wärmeschrank gelegt (ca. 60° C).

Hier bleibt der Objektträger 2—10 Minuten. Abgießen des Wassers, kurzes Spülen, dann Aufschichten einer Toluidinblaulösung (1 : 3000), 10 Minuten färben bei 58—60° Wärme, Abspülen mit Wasser, Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen, abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. (Für die Haltbarkeit der Präparate ist es sehr wesentlich, daß Xylol und Kanadabalsam ganz wasserfrei sind. Haltbarkeit 3 Monate bis 4 Jahre.)« S. Mönkeberg-Bethe § 601.

668. von Apáthy (97) stellt die leitenden Elemente des Nervensystems bei wirbellosen (hauptsächlich Hirudineen) und Wirbeltieren vermittelst einer eigens ausgearbeiteten **Goldmethode** dar. Man kann a) frische, **Vorvergoldung**, und b) vorher konservierte Objekte, Nachvergoldung, mit Gold behandeln. Im ersteren Falle kommen kleinere Objekte, namentlich dünne Membranen, im Dunkeln in eine 1%ige Lösung von Aurum chloratum flavum auf mindestens 2 Stunden, dann ohne Auswaschen in eine 1%ige Lösung von Ameisensäure (spez. Gew. 1,223), worauf sie sofort derart dem Lichte (für 6—8 Stunden) ausgesetzt werden, daß sie von allen Seiten von Lichtstrahlen durchdrungen werden (die Ameisensäurelösung ist eventuell zu wechseln). Einschließen am besten direkt in Gummisirup oder in konzentriertes Glyzerin.

669. Bei **Nachvergoldung** fixiere man bei Wirbeltieren in Sublimat-Osmium (1 Vol. gesättigte Sublimatlösung in ½% Kochsalzlösung + 1 Vol. 1%ige Osmiumsäurelösung) 24 Stunden, Waschen in oft erneuertem dest. Wasser, alsdann in wässeriger Jodjodkaliumlösung (1 g KJ und ½ g J auf 100) 12 Stunden. Weiter wie nach einfacher Sublimatfixierung. Schließlich wird durch Chloroform mit Paraffin durchtränkt, geschnitten und mit Wasser aufgeklebt. Bis zum Durchtränken mit Paraffin wird im Dunkeln gearbeitet. Durch Chloroform und Alkohol werden die Schnitte in Wasser gebracht, wo sie mindestens 6 Stunden verweilen, oder man spült sie in Wasser ab, bringt sie auf eine Minute in eine 1%ige Ameisensäure, spült abermals in Wasser ab und kann sie dann weiter behandeln. Sie kommen zunächst für 24 Stunden in eine 1%ige Lösung von Goldchlorid im Dunkeln, werden dann kurz in Wasser abgespült, in eine 1%ige Ameisensäurelösung gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Hierzu benützt man Glastuben (s. § 235), in welchen der Objektträger schräg gestellt werden muß, in der Weise, daß die Schnitte nach

unten stehen. Unerläßliche Bedingung für das Gelingen des Verfahrens ist eine allseitige Belichtung der Schnitte »bei möglichst intensivem Lichte und möglichst geringer Temperatur.« Man spült sie dann wieder in Wasser ab und überträgt sie in herkömmlicher Weise in Kanadabalsam, oder schließt direkt in konzentriertes Glyzerin oder Gummisirup ein. — Dünne Membranen werden auf eigens hierzu gefertigten Rähmchen von Lindenholz ausgespannt und ebenso wie aufgeklebte Schnitte behandelt. Sind die Präparate gut gelungen, so erscheinen die Neurofibrillen dunkelviolett bis schwarz. Als besonders geeignetes Material werden bei Wirbeltieren die großen Ganglien des Rückenmarks von Lophius, des Kalbes etc. empfohlen.

Die Methode ist, wie bekannt, sagt London, ein Schüler von v. Apáthy, sehr leicht auszuführen, gibt aber sehr selten befriedigende Resultate, sogar in den erfahrensten Händen; jedoch von 100 fertiggestellten Präparaten sind immer einige tauglich, und diese sind dann so instruktiv, daß sie den Verlust an Zeit und Mühe reichlich vergelten.

670. Bielschowskysche Methode. In Formol fixierte Stücke des Zentralnervensystems werden auf einige Stunden in dest. Wasser gebracht, um den Formolüberschuß zu entfernen und werden mit dem Gefriermikrotom möglichst dünn (10 μ) geschnitten; die Schnitte werden in dest. Wasser aufgefangen und kommen in 2%ige Silbernitratlösung, in welcher sie 24 Stunden verweilen. Man bereitet sich nun eine Lösung von ammoniakalischem Silber, indem man zu 20 ccm einer 10%igen Silberlösung unter Schütteln 8—12 Tropfen einer 40%igen Natronlauge zusetzt; es bilden sich erst Niederschläge von schwarzbraunem Silberoxyd, welche bei Zusatz von Ammoniak vergehen. In diese eben hell gewordene, auf das 4—5fache verdünnte Lösung kommen die Schnitte auf 5—10 Minuten. Nach Durchziehen durch dest. Wasser werden die Schnitte in neutraler 20%iger, mit Brunnenwasser hergestellter Formollösung reduziert; diese Prozedur ist die wichtigste, und man kann, wenn sie gelungen ist, schon jetzt unter dem Mikroskop Fibrillen sehen. Die Präparate sind aber in diesem Stadium nicht haltbar; man wäscht deshalb die braungewordenen Schnitte kurz mit dest. Wasser aus und behandelt mit angesäuerter Goldchloridlösung: auf 10 ccm Wasser 2—3 Tropfen einer 1%igen Goldchloridlösung und ebensoviel Eisessig. (Statt Gold kann man angesäuerte

Platinchloridlösung nehmen). Zum Schluß behandle man die Präparate mit 5 %iger Thiosulfatlösung (etwa $^1/_2$ Minute), welche bei vorhergehender Behandlung mit Essigsäure einen Zusatz von schwefelsaurem Natron erhält — 1 Tropfen der konzentrierten Lösung auf 10 ccm Thiosulfat.

Silberimprägnation in Blöcken. Möglichst dünn herzustellende Blöcke oder natürliche dünne Objekte — Retina — kommen je nach ihrem Volumen auf 1—8 Tage in 2 %ige Silbernitratlösung, dann $^1/_2$—6 Stunden in die ammoniakalische Silberlösung und dann nach raschem Durchziehen durch Wasser in 20 %ige Formollösung, worin sie 12—24 Stunden, aber auch ohne Schaden, länger verweilen können. Nach möglichst rascher Entwässerung in Alkoholen von sukzessiv steigender Konzentration und möglichster Beschleunigung der weiteren Prozeduren wird in Paraffin resp. Zelloidin eingebettet. Die weitere Behandlung wie oben.

Wolff 05, ein gründlicher Kenner der Bielschowskyschen Methode, sagt: Es wird also niemanden, der auf diesem Gebiete Erfahrungen hat, verwundern, daß die Bielschowskysche Methode in mannigfacher Weise wird modifiziert werden müssen, wenn man überall gleich präzise Erfolge haben will.

Besonders elektiv färben sich die glomeruli olfactorii, wenn man statt einer 2 %igen Silbernitratlösung eine 10 %ige anwendet und die Schnitte längere Zeit, z. B. 24 Stunden, in einer 0,1 %igen Goldchloridlösung liegen läßt. (Faworski.)

671. Viel gebraucht für Wirbeltiere sind die nun folgenden **Methoden von R. y Cajal:** Um Fibrillen in kleinen und mittelgroßen Nervenzellen darzustellen, legt R. y Cajal (03, 04) ca. 3 mm große frische Stücke auf 3 Tage in 0,75—3 %ige Silbernitratlösung bei 30—35 ° C ein, größere Objekte (z. B. Rückenmark des Kaninchens) kommen auf 5 Tage in dieselbe Lösung. Die Stücke werden 1 Minute in destilliertem Wasser gewaschen und dann in die Reduktionsflüssigkeit: 1—2 Pyrogallussäure oder Hydrochinon, Formol 5 ccm, destilliertes Wasser 100 auf 24 Stunden übertragen, dann wieder einige Minuten mit dest. Wasser gewaschen und in Zelloidin eingebettet. Paraffineinbettung ist nicht ausgeschlossen, nur werden die Schnitte brüchig. 0,75 %ige Lösungen von Silbernitrat verwendet man für

Embryonen und neugeborene Tiere, 3%ige für ausgewachsene Säugetiere. Resultate: Fibrillen in Zellen und Fasern, Neuroglia aber nicht, werden bei allen Wirbeltierklassen, Embryonen wie Ausgewachsenen, dargestellt.

Um Achsenzylinder markhaltiger Fasern und Neurofibrillen großer Zellen zu imprägnieren, fixiert man die Objekte in 96%igem Alkohol 24 Stunden, behandelt dann mit einer 1%igen Silbernitratlösung bei 30—35° C 4 Tage. Nach ganz kurzem Abspülen in dest. Wasser kommen die Stücke in Hydrochinon 2, Wasser 100, Formol 5 auf 24 Stunden; weitere Behandlung wie vorhin. Resultate: Achsenzylinder kaffeeschwarz, Neurofibrillen braun, Körbe der Purkinjeschen Zellen braun. Ist die Farbe zu schwach ausgefallen, so behandelt man die Schnitte kurze Zeit mit der Lösung: sulfocyansaures Ammonium 3 g, unterschwefligsaures Natrium 3 g, Goldchlorid 1%, einige Tropfen auf 100 Wasser.

Für marklose Fasern und Endverzweigungen modifiziert man die vorhergehende Methode, indem man in Alkohol 3 Tage härtet, sonst aber gleich verfährt.

Um Neurofibrillen großer Zellen und feine Nervenfasern zu färben, kann man auch in 96%igem Alkohol mit Zusatz von 0,5—1% Ammoniak (für größere Stücke 1,5%) 24—36 Stunden härten, in dest. Wasser waschen, mit 1,5%iger Silberlösung 3—5 Tage bei 30 bis 35° C behandeln und in 2%iger Hydrochinonlösung mit 5%igem Formolzusatz 24 Stunden reduzieren. Weitere Behandlung wie vorher. — Statt Alkohol kann man als Härtungsflüssigkeit: Formol 20, Wasser 100, Ammoniak 0,5 24 Stunden verwenden; in diesem Falle muß vor dem Versilbern 12 Stunden lang in fließendem Wasser gewaschen werden. Diese letztere Methode eignet sich für Färbung von Nervenendigungen, man wendet aber eine 3%ige Silberlösung an. — v. Lenhossék empfiehlt als Nachbehandlung der Schnitte Goldchloridlösung 5—30 Minuten (4 ccm einer 1%igen Goldchloridlösung auf 150 ccm Wasser). Die Fibrillen erscheinen dann schwarz auf farblosem Grunde, siehe auch Poscharinsky.

672. Joris H. färbt Nervenfibrillen mit kolloidalem Gold. Fixierung in Sublimat, Formol, Essigsäure, Salpetersäure, Pikrinsäure sind zulässig, nicht aber Bichromate, Osmiumsäure. Kleine Stücke vom zentralen Nervensystem werden in Eisessig 5, Sublimat 8, dest. Wasser 100, oder Formol 10, Salpetersäure 6, Wasser 100 fixiert; in ersterem Falle

4—6 Stunden, im zweiten 24 Stunden. Die Fixation kann auch nach Bethe § 667 erfolgen. Nach dem Fixieren spült man mit dest. Wasser ab (kurze Zeit) und überträgt auf 8—12 Stunden in Ammoniummolybdat 5 g und dest. Wasser 100 ccm. Man schließt in Paraffin ein, indem man das Verweilen in Alkohol möglichst abkürzt und durch Chloroform einbettet, schneidet etwa 10 μ dick, klebt mit Wasser an. Das Paraffin wird mit Chloroform gelöst, die Schnitte werden in Alkohol übertragen und darauf längere Zeit, 1—4 Stunden, mit oft zu wechselndem Wasser behandelt, um Ammoniummolybdat bis auf Spuren zu entfernen. Nun werden die Schnitte mit einigen Tropfen 1,5 **kolloidalem Gold** gelöst in 100 ccm Wasser, bedeckt, und etwa nach $^1/_4$ Stunde sind die Fibrillen gefärbt. Man wasche mit Wasser usw. und schließe in Kanadabalsam ein. Das kolloidale Gold löst sich langsam; je frischer die Lösung, desto rascher färbt sie. Zunächst erscheinen die Fibrillen schwach gefärbt, sie dunkeln aber in Alkohol und Chloroform nach. Die Präparate halten sich unverändert. Wir haben mit der Jorisschen Methode seinerzeit sehr deutliche Präparate erzielt. Wie Joris bemerkt, sind einige Neuronen, z. B. die des Olivenkernes, Zellen der molekularen Schicht im Groß- und Kleinhirn usw. dieser Färbung unzugänglich. (Das kolloidale Gold ist von de Heyden, Radebeul bei Dresden, zu beziehen.)

Zum Zwecke der Darstellung der markhaltigen Fasern im Zentralnervensystem verdanken wir Weigert eine Reihe von Methoden, von denen wir folgende erwähnen:

673. Die **ursprüngliche** Weigertsche Hämatoxylin**methode** bestand in folgendem: Schnitte in Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit fixierter (nicht mit Wasser ausgewaschener) Präparate, die braun, aber nicht grün sein dürfen (Zelloidindurchtränkung), kommen in eine Hämatoxylinlösung:

1 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol und
90 ccm Wasser

(vor dem Gebrauch muß die Lösung einige Tage stehenbleiben) auf 3 Stunden in den Thermostat, welcher auf ca. 30—45° C erwärmt ist; entsprechend länger (1—2 Tage) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die schwarz gewordenen Schnitte werden oberflächlich mit destilliertem Wasser abgespült und in

Borax . . . . . 2 g
Ferricyankalium . . . $2^1/_2$ g und
Wasser . . . . . 100 g übertragen.

In dieser Flüssigkeit vollzieht sich die gewünschte Differenzierung, und zwar in der Weise, daß die graue Substanz gelb wird und die weiße dunkel bleibt. Unter Umständen erreicht man diese Differenzierung erst nach Stunden. Sämtliche Markscheiden erscheinen alsdann schwarz, die übrigen Elemente gelb bis bräunlich.

674. Ferner erwähnen wir folgende von Weigert angegebene Methode: Die (Fixierung wie in § 673) mit Zelloidin durchtränkten und auf Kork, resp. Holz, befestigten Stücke (siehe § 119 und 120) kommen in eine neutrale essigsaure Kupferoxydlösung (eine gesättigte Lösung des Salzes wird mit gleichem Volumen Wasser verdünnt), in einen Thermostat bei 40° C auf ein- bis zweimal 24 Stunden; die Stücke sehen nun dunkelgrün aus und der Zelloidinmantel hellgrün. Nach dieser Prozedur können die Stücke in 80%igem Spiritus bis zum Schneiden aufbewahrt werden. Sind die Schnitte angefertigt, so kommen sie in folgende Hämatoxylinlösung (Weigertsches Hämatoxylin):

1 g Hämatoxylin,
10 ccm absoluter Alkohol,
90 ccm Wasser und
1 ccm gesättigtes Lithium carbonicum in Wasser.

Vor dem Gebrauche wird der Farbe Essigsäure (einen Tropfen auf ein Uhrschälchen) zugesetzt.

In dieser Flüssigkeit verbleiben die Schnitte, je nach dem Objekt, 2—24 Stunden (bei schwer sich färbenden Objekten auch im Thermostat bei 40° C) und kommen dann in die Differenzierungsflüssigkeit, welche dieselbe wie bei der eben erwähnten Weigertschen Hämatoxylinmethode geblieben ist, d. h.

2 g Borax,
2½ g Ferricyankalium auf
100 ccm Wasser.

Der Prozeß der Differenzierung dauert lange, mitunter Tage, und darf nicht eher unterbrochen werden, bis die weiße Substanz dunkel und die graue hell geworden ist.

675. Das neuere Verfahren von Weigert (91) ist scheinbar komplizierter, führt aber desto sicherer zum Ziel. Die Vorbehandlung bleibt dieselbe. Nachdem die mit Zelloidin durchtränkten Stücke in 80%igem Spiritus fest geworden sind, kommen sie, auf folgender Mischung schwimmend, in den Brütofen: eine kaltgesättigte, wässerige Lösung von Cuprum aceticum neutrale und Tartarus natronatus, (Seignettesalz) 10% wässerige Lösung zu gleichen Teilen. Größere Stücke, wie z. B. Pons Varoli des Menschen, können länger als 24 Stunden in der Lösung verbleiben. In diesem Falle wird sie nach 24 Stunden gewechselt. In keinem

Fall verbleiben die Stücke länger in der Lösung als 48 Stunden; die Temperatur in dem Thermostaten darf keine hohe sein, sonst werden sie brüchig. Dann werden die Objekte auf einer wässerigen, entweder gesättigten oder halb mit Wasser verdünnten gesättigten Lösung von Cuprum aceticum neutrale schwimmend, abermals auf 24 Stunden, in den Brütofen gebracht. Dann werden sie flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült und in 80%igen Spiritus übertragen, in welchem sie schon nach einer Stunde schnittfähig sind, können aber in demselben auch länger aufgehoben werden. Es wird in der gewöhnlichen Weise geschnitten. Als Färbemittel bereite man sich folgende Lösungen: a) Lithion carbonicum, eine gesättigte wässerige Lösung = 7 ccm und 92 ccm Aq. dest.; b) Hämatoxylin 1 g und Alk. abs. 10 ccm; a und b halten sich längere Zeit, und man kann beide Lösungen in unverändertem Zustande vorrätig halten. Kurz vor dem Gebrauch werden 9 Teile a und 1 Teil b miteinander gemischt. Nach 4—5 Stunden bei Zimmertemperatur sind die in dieser Mischung gelegenen Schnitte gefärbt, aber auch nach 24 stündigem Aufenthalt in der Farbe nicht überfärbt. Für lose, nicht angeklebte Zelloidinschnitte ist die Differenzierungsflüssigkeit überflüssig, und kann diese Methode infolgedessen mit großem Vorteil gerade dort gebraucht werden, wo graue und weiße Substanz makroskopisch nicht unterschieden werden können, und wo infolgedessen die Beurteilung der Differenzierung auf makroskopischem Wege erschwert oder überhaupt unmöglich ist. Die Schnitte werden schließlich mit Wasser abgespült, mit 90%igem Alkohol behandelt, mit Karbol-Xylol oder Anilin-Xylol aufgehellt (in letzterem Fall sorgfältig mit Xylol gewaschen) und in Xylol-Balsam eingeschlossen. Die markhaltigen Fasern erscheinen dunkelblau bis schwarz, der Grund hell bis hellrosa und der Zelloidinrand manchmal bläulich. Will man letztere Farbe entfernen, so braucht man nur statt mit gewöhnlichem Wasser mit einer $^1/_2$%igen Essigsäure auszuwaschen, was jedoch bei sehr zarten Objekten, z. B. bei der Großhirnrinde, nicht empfehlenswert ist.

Bei der Anwendung der Weigertschen Methoden wird eine Schnittdicke vorausgesetzt, die nicht $^1/_{40}$ mm übertrifft, weil bei dickeren Schnitten die Markscheiden sich nicht genügend deutlich von dem nicht ganz farblosen Untergrunde abheben.

Will man auch diese Färbung des Untergrundes entfernen, so nimmt man statt des zweiten Auswaschwassers eine $^1/_5$—$^1/_2$%ige Essigsäure. (Dann Wasser, Alkohol). Bei zarten Präparaten (z. B. Großhirnrinde) ist die Essigsäurebehandlung, wie schon gesagt, zu vermeiden.

676. Die **Palsche** (**86**) **Methode** (die Färbung ist sehr präzis, aber nicht so intensiv wie bei der Weigertschen Methode, und deshalb ist sie namentlich für dicke Schnitte zu empfehlen); sie ist nichts anderes als eine modifizierte Weigertsche. Die Fixierung ist wie bei der eben erwähnten Methode; die Schnitte kommen entweder gleich in Hämatoxylin, oder, wenn sie nicht genügend braun sind, den Stich ins Grüne zeigen, auf einige Stunden in $^1/_2$%ige Chromsäure, resp. in eine 2—3%ige Kalium bichromicum-Lösung. Es werden nun die Schnitte in eine der folgenden Hämatoxylinlösungen übertragen, entweder Weigertsches Hämatoxylin (siehe § 674) oder

0,75 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol,
90 ccm Wasser, unter Erwärmen lösen und
2 ccm einer gesättigten wässerigen Lithium carbonicum-Lösung hinzufügen. Nach mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur überträgt man die Schnitte in $^1/_4$%ige wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung, die frisch bereitet werden muß, auf 20—30 Sekunden, und darauf auf längere Zeit in

Oxalsäure	1
Kalium sulfurosum	1 und
Wasser	200,

in welcher Flüssigkeit sich die Differenzierung vollends vollzieht, so daß makroskopisch die graue Substanz farblos und die weiße dunkel erscheint; sämtliche Markscheiden sind alsdann dunkelblau, alles übrige ist farblos. Es wird mit Wasser gewaschen usw. Ein Nachfärben mit anderen Farben, wie z. B. mit Eosin, Alaunkarmin usw., ist nicht ausgeschlossen.

Auch folgender Weg führt zum Ziele:

Die Schnitte werden mit Erlickischer Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden bei einer Temperatur von 40—50° behandelt, sie bleiben nach einem ganz oberflächlichen Abspülen mit Wasser in

Hämatoxylin	1 g,
Alkohol abs.	10 g und
Wasser	90 ccm

ebenfalls 2—3 Stunden bei der eben angegebenen Temperatur; dann werden sie mit unterchlorigsaurem Natron (einige Tropfen einer Lösung mit 2%igem Chlorgehalt auf eine Uhrschale mit Wasser) behandelt, in welcher Flüssigkeit sich direkt die Differenzierung unter den Augen des Beobachters in kurzer Zeit vollzieht, in der Weise, daß die Markscheiden gefärbt bleiben und alles übrige entfärbt wird. Auch verdünnte Aqua Javelli kann als differenzierende Flüssigkeit analog angewandt werden.

Hat man nach irgendeiner der zitierten Methoden die Differenzierung der grauen und weißen Masse erlangt, so werden die Schnitte sorgfältig mit dest. Wasser abgespült, entwässert und eingeschlossen.

677. Für den früheren Nachweis der Markscheiden besitzen wir eine sehr empfindliche **Methode von O. Schultze** (06). Kaliumbichromat als Fixierungsmittel bei Weigertschen Färbungen färbt die Markscheide nur zum Teil, so daß sehr geringe Mengen, z. B. im Entstehen derselben, sehr leicht übersehen werden können. »Mit Osmiumsäure konservierte Stücke werden in 1%ige Kaliumbichromatlösung übertragen, und diese wird im Verlauf von 24 Stunden mindestens 3 mal gewechselt, um überschüssige Osmiumsäure auszuwaschen. Dann folgt Übertragung in 50%igen Alkohol (Dunkelstellung) für 24 Stunden; dann kommen die Stücke in eine gereifte Hämatoxylinlösung von $^1/_2$% in 70%igem Alkohol für 24 bis 48 Stunden, je nach der Größe, werden 1—2 Tage in 70%igem Alkohol ausgewaschen usw. und eingebettet. Die Stücke sind tiefschwarz, und deshalb sind Schnitte von unter 5 μ erforderlich. Auch die feinsten Markscheiden sind anfangs als äußerst schwache Ringe zu sehen. So kommt es, daß Objekte, in denen man in der Regel nur marklose Fasern annahm, wie z. B. im Marke junger Amphibienlarven, bereits massenhaft markhaltige Fasern zeigen . . .«

678. Wie **Weigert** (95 und 94) nachgewiesen hat, ist seine Fäbung auch **nach** Fixation nicht nur in Müllerscher, Marchischer Flüssigkeit, sondern auch in **Formol** möglich. Die Prozedur ist dann die folgende:

Einbetten in Zelloidin,

Schneiden (nicht kupfern!).

Chromsäure 1%; erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen; vorher muß man die Schnitte gut ausbreiten.

Abspülen in Wasser.

Färbung in Weigertschem Hämatoxylin unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

Wasser. — Differenzierung nach Pal. Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak (wenn braun) oder Lithium carbon. (wenn blau) zugesetzt sind. — Einschließen.

679. Man kann die Weigertsche Methode auch an in Formol fixiertem Material in einer anderen Weise anwenden. Man verfährt nach Benda (00) folgendermaßen: Die Stücke kommen auf beliebige Zeit in die Gliabeize von Weigert (5 g essigsaures Kupferoxyd, 5 ccm konz. Essigsäure, 2,5 g Chromalaun auf 100 Wasser), aber davon mindestens 2 Tage in den Thermostat, dann werden sie 1 Tag gewaschen und endlich 2 Tage mit einer $^1/_2$%igen Chromsäure nachbehandelt. Die weitere Behandlung wie bei der Weigertschen Methode.

680. Beliebig große Stücke werden nacheinander in 5 bis 10%iger Formollösung und 96%igem Alkohol behandelt und in Zelloidin geschnitten. Die Schnitte kann man in Methylenblau (für Nißl), Thionin (v. Lenhossék) usw. verwerten; aber wenn man die Schnitte in 0,5%iger Chromsäure ca. 10 Stunden beizt, mit Wasser abspült und kurz mit 80%igem Spiritus behandelt, kann man nach Pal färben; die Schnitte verhalten sich wie nach Müller. Besonders gelingt die Färbung, wenn man zu Weigertschem Hämatoxylin einige Tropfen verdünnter Salpetersäure zufügt. Minnich. Gudden (97).

681. Noch einfacher scheint folgende Markmethode, welche durch Kultschitzky (90) angegeben wurde, zu sein:

Objekte aus Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit werden mit Zelloidin durchtränkt, geschnitten und die Schnitte in die Hämatoxylinlösung übertragen:

1 g Hämatoxylin wird in ein paar ccm Alkohol vollkommen gelöst und zu 100 ccm einer 20%igen wässerigen Borsäurelösung hinzugefügt. Diese Hämatoxylinlösung wird vor dem Gebrauch mit 2—3 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen angesäuert. Oder noch einfacher:

Man löse 1 g Hämatoxylin in ein paar ccm Alkohol und füge 100 ccm einer 2%igen wässerigen Essigsäurelösung hinzu.

Es erscheinen nach 24 Stunden sämtliche Markscheiden dunkelblau, alles übrige fast ungefärbt mit einem Stich ins Rötliche. Das nachträgliche Behandeln mit der Weigertschen Differenzierungsflüssigkeit (§ 674) führt jedoch sicherer zum Ziele.

682. Nach Kultschitzky (87 b) und Wolters (90) geben wir folgende Methode zur Mark- und Achsenzylinderfärbung an:

a) Kultschitzky: In 50%igen Alkohol bringt man ad libitum feingestoßenes doppeltchromsaures Kalium und schwefelsaures Kupferoxyd. Nach 24 Stunden löst sich ein Teil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf. Vor dem Gebrauch wird diese Flüssigkeit mit Essigsäure, 5—6 Tropfen auf 100 ccm, angesäuert. — Je nach der Größe werden die Objekte 12—24 Stunden im Dunkeln fixiert und dann in starken Alkohol übertragen. Nach abermals 12—24 Stunden können dieselben geschnitten werden.

b) Wolters: Die mit der Kultschitzkyschen Flüssigkeit fixierten Stücke werden in Zelloidin möglichst dünn geschnitten (5—10 μ) und dann auf 24 Stunden in folgende Beize übertragen:

10%iges Vanadium chloratum . . . . 2 Teile
8%iges Aluminium aceticum liquidum . 8 »

Nach kurzem (10 Minuten) Abwaschen mit Wasser kommen die Schnitte in die Hämatoxylinlösung von Kultschitzky:

Hämatoxylin 2,0 (alkoholische Lösung),
2%ige Essigsäure —100,

eventuell ein paar Tropfen Osmiumsäure (Kaes, 91) auf 24 Stunden (bei 30°) und werden dann in 80%igem salzsäurehaltigem Alkohol entfärbt, bis die Schnitte einen hellen blauroten Ton zeigen. Übung beim Entfärben ist erforderlich.

683. Borchert schlägt für Rückenmarke, resp. Gehirne kleineren Volumens von niederen Wirbeltieren folgendes **Verfahren** vor: In Formalin fixierte Objekte werden in 3 mm große (wenn es angeht, in noch kleinere) Scheiben zerschnitten und in 1%ige Osmiumsäure auf 24 Stunden übertragen. Nach mehrstündigem Waschen und Behandlung mit allmählich verstärkten Alkoholen wird in Paraffin eingebettet und geschnitten (20 μ dick). Die angeklebten Schnitte werden wenige Sekunden mit $^1/_4$%igem Kalium hypermanganicum behandelt, mit dest. Wasser gespült und in Acid. oxalicum 1,0, Kal. sulfurosum 1,0 und Aq. dest. 200 (wie bei Pal) gebleicht. Nach beendeter Differenzierung wäscht man mehrere Stunden in fließendem Wasser, entwässert und schließt in Kanadabalsam ein. (Ausprobiert für Frösche, Selachier, Schafe.)

684. Streeter färbt die **Markscheiden** in **Paraffinschnitten.** Fixierung in 5%igem Kaliumbichromat mit 2% Fluorchrom 4—8 Tage bei Zimmertemperatur; während dieser Zeit wird die Flüssigkeit einmal gewechselt. Dann werden die Stücke in oft zu wechselndem 80%igen Alkohol 1—2 Wochen gewaschen (Waschen mit Wasser wurde nicht probiert). Dann werden die Stücke 4—6 Tage in Weigertschem Hämatoxylin (§ 674) gefärbt. Die Lösung

ist nach dem 1. und 3. Tage zu erneuern. Die Stücke werden 48 Stunden in 70%igem Alkohol gewaschen und durch absoluten Alkohol usw. in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die mit Eiweiß angeklebten Schnitte werden nun nach Weigert oder Pal differenziert.

685. Azoulay (94) empfiehlt für die Färbung der Markscheiden, namentlich im Zentralnervensystem, folgende Methode: Man fixiere die Stücke in Müllerscher Flüssigkeit, wasche 1—2 Tage in Wasser aus, durchtränke mit Zelloidin und schneide. Möglichst dünne Schnitte werden kurze Zeit mit Wasser gewaschen und in eine 1—2‰ige Osmiumsäure auf 5—15 Minuten übertragen, dann abermals mit Wasser kurz gewaschen. Nun kommen die Schnitte in eine 5—10%ige Tanninlösung und werden auf 50—55° C ca. 5 Minuten (2—5) erwärmt, wobei die gewünschte Färbung aufzutreten pflegt. Man wasche jetzt ordentlich mit Wasser aus, färbe eventuell mit Karmin oder Eosin nach und überführe die Schnitte durch Alkohol, Xylol in Kanadabalsam. Sind die Schnitte zu dick geraten, so wende man nach der Tanninbehandlung die Palsche Methode (hypermangansaures Kalium 0,25%ig, Waschen mit Wasser, schwefelsaures Kalium 1%ig + Oxalsäure 1%ig zu gleichen Teilen [vor dem Gebrauch zu mischen]), oder auch aq. Javelli 1 auf 50 Wasser an und fahre, wie oben, weiter fort. — Die Zeitdauer der Entfärbung mit Palscher Methode oder aq. Javelli ist nicht anzugeben, vielmehr muß mit dem Mikroskop kontrolliert werden.

Sind die Stücke in einem osmiumhaltigen Gemisch (Flemmingsche Lösung, Osmiumbichromat von R. y Cajal, Marchische Flüssigkeit etc.) gewesen, so überträgt man die Schnitte aus dem Wasser in 5—10%ige Tanninlösung und verfährt im übrigen wie oben.

Auf dieselbe Weise kann man auch Fett in beliebigen Organen färben.

686. Flechsig (76) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bei Embryonen, Föten und jungen Tieren Nervenbahnen nicht gleichzeitig markhaltig werden, und darauf eine Methode für das Studium des Faserverlaufs im Zentralnervensystem gegründet.

687. Färbemethode nach Marchi (85):

1. Müllersche Flüssigkeit 8 Tage. 2. Möglichst kleine Stücke kommen ohne Auswaschen in: Müllersche Flüssigkeit 2 + Osmiumsäure 1%ig 1 Teil 5—8 Tage. 3. Auswaschen (einige Tage). 4. Zelloidin etc.

Die degenerierenden (nicht die degenerierten) Fasern werden schwarz, alles andere leicht gelb. Vgl. Weigert (98).

Da bei der Marchischen Färbung bloß kleine Gehirnstücke sich gut färben, weil sonst schwarze Schollen an solchen Stellen sich ablagern, die nicht degeneriert sind, empfiehlt Teljatnik (97) zur Beseitigung dieser der Methode anhaftenden Mängel folgende Modifikation: Es werden $1^1/_2$ cm dicke Stücke vom Nervensystem in eine Müllersche Lösung eingelegt, dann gelangen sie in Chromosmiumlösungen, deren Konzentration allmählich gesteigert wird; zuletzt werden die Präparate mit hypermangansaurem Kalium und mit Oxalsäure behandelt (wie in der Palschen Methode); bei dieser Behandlung sollen diejenigen schwarzen Schollen, die keine Degenerationsprodukte sind, verschwinden.

688. Weigerts (95) Neurogliafärbung:

1. Fixierung (und Beizung).

Diese beiden Prozeduren kann man getrennt oder vereint vornehmen. Man trennt sie, wenn man die Präparate auch nach anderen Methoden, z. B. der Marchi-, Golgi-, Nißl- oder Markscheiden-Methode, behandeln will. In diesem Fall Fixation mit Formol 1 : 10. Stücke nicht über einen halben Zentimeter dick! Material möglichst frisch. Große Schalen mit Fließpapier belegt. Die Flüssigkeit ist nach dem 1. Tage zu wechseln; etwa 4 Tage genügen zur Fixierung. Die so fixierten Stücke können jahrelang ohne Nachteil für die Neurogliafärbung aufbewahrt werden.

2. Beizung (siehe Merkel-Bonnet, Ergebnisse, 94).

Besonders zu empfehlen ist:

5 % essigsaures Kupferoxyd,
5 % gewöhnliche Essigsäure,
$2^1/_2$ % Chromalaun in Wasser.

Hierbei ist zu beachten: der Chromalaun wird zuerst in Wasser gekocht, dann werden die beiden anderen Komponenten zugesetzt, und zwar zuerst die Essigsäure und dann das feingepulverte, neutrale essigsaure Kupferoxyd. Man rührt gehörig um und läßt erkalten.

In diese Lösung, welche auch für Markscheidenfärbung zu empfehlen ist, kommen die in Formol fixierten Stücke auf 4—5 Tage bei Brutofentemperatur oder bei Zimmertemperatur auf etwa 8 Tage. Will man nur die Neuroglia gefärbt erhalten, so ist es besser, die frischen, nicht über $^1/_2$ cm dicken Stücke mit Umgehung des einfachen Formols direkt in jene Kupferchromalaunlösung zu bringen,

der man dann 10% Formol zusetzen muß. Wechseln der Flüssigkeit!

Zum Schneiden werden die Stücke mit Wasser abgespült, in Alkohol entwässert und mit Zelloidin durchtränkt.

Die Schnitte kommen auf etwa 10 Minuten in eine 1/3%ige Lösung von Kalium hypermanganicum, dann Auswaschen durch Aufgießen von Wasser, dann Verbringen der Schnitte in die Reduktionsflüssigkeit (5% Chromogen und 5% Ameisensäure [spez. Gewicht 1,20] in Wasser). Man filtriert sorgfältig. Vor dem Gebrauch setzt man zu 90 ccm dieser Flüssigkeit 10 ccm einer 10%igen Lösung von Natriumsulfit (einfach schwefligsaures Natron). Schon nach wenigen Minuten sind die durch Kalium hyperm. gebräunten Schnitte entfärbt, aber man läßt sie zweckmäßiger noch 2—4 Stunden in der Lösung. Will man das Bindegewebe farblos erhalten, so kann man jetzt die Vorbereitungen für die Färbung abschließen; wenn nicht, und man will das Bindegewebe und das Nervöse in der Kontrastfarbe tingieren, so bringe man die Schnitte nach dem Abgießen der Reduktionsflüssigkeit und nach zweimaligem Aufgießen von Wasser in eine gesättigte, wässerige Chromogenlösung (5% Chromogen in Aqua destillata). Man filtriere sorgfältig! In dieser Lösung bleiben die Schnitte über Nacht, je länger, desto intensiver wird die Kontrastfärbung des Nervensystems, dann gießt man wieder zweimal Wasser auf, und nun sind die Schnitte fertig zur Färbung.

3. Färbung; diese ist eine modifizierte Fibrinfärbung, s. § 440. Die Jodjodkaliumlösung ist unverändert (gesättigte Lösung von Jod in 5%iger Jodkaliumlösung). Statt der üblichen Gentianaviolettlösung benutzt man aber eine heißgesättigte und nach dem Erkalten von dem Bodensatz abgegossene alkoholische Lösung (70—80% Alkohol) von Methylviolett. Dieser Lösung setzt man auf je 100 ccm 5 ccm einer 5%igen wässerigen Oxalsäurelösung zu. Die Anilinölxylollösung ist nicht im Verhältnis von 2 Anilinöl: 1 Xylol, sondern 1:1. Im übrigen ist die Färbung wie bei der Fibrinmethode, die Reaktionen gehen sehr rasch vor sich. Schnittdicke nicht über 20 μ.

689. Bartel schlägt folgende **Modifikation** vor: er bettet Objekte statt in Zelloidin in Paraffin ein und behandelt die Schnitte, — ohne das Paraffin zu entfernen bis Jodjodkalium inklusive ebenso, dann wäscht er die Schnitte gut mit

destilliertem Wasser, fängt sie auf Objektträger auf § 178, trocknet sie bei 38° C und überträgt sie in Anilinöl-Xylol (1 zu 10 bis 1—100); hier löst sich Paraffin, und die Differenzierung geht nur sehr langsam, 12—24 Stunden, vor sich. Nach dieser Methode kann auch am Material bis 36 Stunden nach dem Tode gefärbt werden. — Bartel gibt annähernd die Zeiten an, welche für Paraffinschnitte, welche nach der Weigertschen Glia-Methode gefärbt, angewendet werden sollen: Kalium hypermanganicum $^1/_3$% $^1/_2$—1 Stunde; Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfitlösung 6—12 Stunden: alkoholische Methylviolettlösung 12—24 Stunden; Jodjodkalium $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.

690. Die so wichtigen **Methoden von Benda** (00) über Neuroglia-Färbung gebe ich in extenso:

Härtung:

1. Kleinste Stückchen möglichst frischen Materials auf zwei Tage in mindestens 10% bis reinem Formalin (Schering).
2. Beizung beliebig lange, aber mindestens zwei Tage im Brütofen mit Weigerts Gliabeize (heißgelöst 2,5 g Chromalaun auf 100 aqu.; dazu 5 g essigsaures Kupferoxyd. 5 g konzentr. Essigsäure). Hiernach gründliche (ca. 24stünd.) Wässerung.
3. Nachbeizung zwei Tage mit 0,5% wässeriger Chromsäurelösung. Dann 24stündige Wässerung.
4. Entwässern in steigendem Alkohol.
5. Paraffindurchtränkung.
6. Schneiden und Aufkleben der Schnitte.
7. Auswaschung des Paraffins mit Xylol oder Benzin, Alkohol absol., Alkohol 90%, Wässern.

Färbung A:

8. Beizung der Schnitte, 24 Stunden, in 4% Eisenalaunlösung oder in verdünntem Liqu. ferr. sulfur. oxyd. 1:2 Vol. Aqu. dest.
9. Abspülen in fließendem Wasser 15—30 Sekunden.
10. Färben in dünner (bernsteingelber), wässeriger Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (Kahlbaum).
11. Eintauchen in destilliertes Wasser und Abtupfen mit Fließpapier.
12. Färben in 0,1%iger wässeriger Lösung von Toluidinblau (Erwärmen im Uhrschälchen, dann ca. 15 Minuten in der erkaltenden Flüssigkeit).
13. Abspülen in 1%iger Essigsäure.

14. Abtrocknen mit Fließpapier, Eintauchen in Alkohol absolutus.
15. Differenzieren in Kreosot ca. 10 Minuten unter schließlicher Kontrolle des Mikroskops.
16. Abtrocknen mit Fließpapier, Xylol (mehrmals überspülen), Balsam.

Färbung B:

10. 24 Stunden in weingelber, wässeriger Hämatoxylinlösung.
11. Differenzieren in 30%iger Essigsäure, bis der Schnitt blaugrau ist.
12. Abspülen mit Aqu. dest. und Abtupfen mit Fließpapier.
13. Aufgießen von Anilinwasser-Gentianalösung (nach Ehrlich) oder Methylviolett-Oxalsäure Weigert, konzentrierte Lösung in 70%igem Alkohol und 5 ccm auf 100 einer 5%igen Oxalsäurelösung, oder Kristallviolett-Anilinwasser-Salzsäure (Benda), Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.
14. Abspülen und Abtupfen mit Fließpapier.
15. Überspülen von Jodjodkaliumlösung.
16. Abspülen, Abtrocknen.
17. Differenzieren mit Anilin-Xylol aa.
18. Abtupfen, mehrmaliges Überspülen von Xylolbalsam. Oder endlich

Färbung C:

10. 24 Stunden in weingelber, wässeriger Hämatoxylinlösung.
11. Differenzieren und Nachfärben mit Pikrinsäure, Säurefuchsin (nach v. Gieson).
12. Alkohol usw. Balsam.

691. Huber hat die **Methode A** von Benda etwas modifiziert und ist der Meinung, daß es sich mit dieser Modifikation sicherer arbeiten läßt.

692. Rubaschkin beschreibt in einer leicht zugänglichen Quelle eine **Färbung** der Neuroglia mit Methylviolett B. Vgl. auch Hoppe und Wimmer.

9. Kapitel. **Herz, Blutgefäße und deren Verteilung, Lymphgefäße und Saftkanäle.**

693. Um die Anordnung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Gewebsteile, welche die **Herzwand** zu-

sammensetzen, kennen zu lernen, ist es nötig, Schnitte durch die Herzwand anzufertigen, die man in beliebiger Weise (Müllersche Lösung, Chromsäure, Alkohol etc.) fixiert und weiter behandelt hat. Für die **Isolation von Zellen der Purkinjeschen Fäden, glatten und Herzmuskelzellen,** verfahre man nach § 578.

694. Das **Endo- und Perikard** können (siehe § 378) versilbert, mit der Pinzette abgezogen (oder durch Flächenschnitt mit dem Rasiermesser als dünne Lamelle abgetragen) und in Glyzerin eingeschlossen werden.

695. Größte und große Gefäße fixiere man beliebig und schneide sie in Zelloidin. Färbung für elastische Fasern mit der Orzeïnmethode (siehe § 463) und der Weigertschen Methode (siehe § 461), für Bindegewebe nach § 454.

696. Die **Media dieser Gefäße** wird mit Kali- (Natron-) lauge, $^1/_3$ Alkohol (24 Stunden und länger) oder einer 1%igen Weinsäure einige Stunden behandelt; es lassen sich nach dieser Vorbehandlung elastische Elemente — Platten, Netze und Fasern durch sorgfältiges Spalten und Zupfen stellenweise isolieren.

697. Mittlere Arterien und Venen werden geschnitten und mit Pikrokarmin § 288 tingiert (Muscularis).

698. Kleine und **kleinste** Gefäße (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelemente bestehenden] Muskulatur, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man sehr bequem an Zupfpräparaten der weißen, resp. grauen Substanz des Zentralnervensystems, wo sie als willkommene Nebenbefunde erscheinen. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen wurden.

699. Man kann die **Kapillaren** und allenfalls kleine Arterien und Venen an etwas nachgedunkelten, versilberten (siehe § 378) dünnen Lamellen, die z. B. mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sicherere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten ließ, eine dünne (1—5 %oige) Silbernitratlösung, oder Silber-Gelatine, § 709, in die Gefäße einspritzt, bis das ganze Gefäßsystem

gefüllt ist (Frosch 10—15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol fixiert und eingeschlossen werden; solche Präparate zeigen außer den Endothelgrenzen die Grenzen der glatten Muskeln.

700. Fixiert man Blutgefäße, z. B. die art. tibialis, in Orthschem Gemisch (§ 39), oder mit Formol allein, beizt die Schnitte mit Kupferazetat und Chromsäure § 679, färbt mit Weigertschem Hämatoxylin (§ 674) und zieht vorsichtig unter Kontrolle mit Borax-Ferricyankalium aus § 674, so färben sich in der Media der Blutgefäßwände **Fasern,** »welche sich durch ihren **geradlinigen** Verlauf und durch ihre starre, schweinsborstenähnliche Beschaffenheit auszeichnen.« Ebensolche Fasern findet man zerstreut im Bindegewebe. Dürck.

701. Nicht injizierte Kapillaren kollabieren in dem Maße, daß man sie oft in Schnitten nicht erkennen kann. Um die Verbreitung derselben zur Anschauung zu bringen, injiziert man die Gefäße.

Die **Injektionstechnik** ist zu einem besonderen, umfangreichen Zweige der mikroskopischen Technik herangewachsen. Wir sehen von der Schilderung der Injektionsapparate, Technik des Einführens und Befestigens der Kanüle etc. ab und begnügen uns mit der Angabe zweier wohlerprobter Injektionsmassen: einer roten und einer blauen.

702. Es ist dies zunächst die **Gelatine-Karminlösung.** Sie wird folgendermaßen hergestellt: Man bereite sich einen Karminbrei (etwa 4 g Karmin und 8 ccm Wasser). Zu diesem Karminbrei gieße man so viel Ammoniak hinzu, wie nötig ist, um den Karmin in Lösung zu bringen, was daran zu erkennen ist, daß das Ganze lackfarben wird. Anderseits lege man etwa 50 g Gelatine in destilliertes Wasser und lasse sie darin etwa 24 Stunden aufquellen. Ist die Gelatine aufgequollen, so erwärme man dieselbe, nachdem man das Wasser mit den Händen ausgepreßt hat, auf dem Wasserbade auf etwa 60° C und sorge dafür, daß die Gelatine nicht überwärmt werde; ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem Karminbrei hinzu, als nötig ist, um eine bestimmte Farbenintensität zu erzielen. Man mische sorgfältig mit einem Glasstabe, bis sich der Karmin gleichmäßig in der Gelatinemasse verteilt hat. Nun tröpfle man

in diese Lösung eine etwa 25 %ige Essigsäurelösung unter beständigem Umrühren hinzu, bis die dunkel-kirschrote Lackfarbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Ist das der Fall, so ist die Masse neutral, und man filtriere sie durch Flanell.

Die Masse wird in warmem Zustande einem vorher auf 37—38° C in warmem Wasser gewärmten, durch Massieren vor Einbinden der Kanüle möglichst blutleer gemachten Tiere injiziert (bei Amphibien genügen schon ca. 30° C). Die so injizierten Organstücke werden in Spiritus fixiert.

Will man kleine Tiere ganz injizieren, so empfiehlt es sich, die Kanüle durch das linke Herz in die Aorta einzuführen und so einzubinden, oder, bei größeren Tieren, resp. bei genauer auszuführenden Injektionen, indem man in eines der zuführenden Gefäße des zu injizierenden Organes die Kanüle einführt. Eine passende Unterbindung einiger der übrigen Gefäße ist zu berücksichtigen usw. Man injiziere langsam unter geringem Druck.

703. Das im Wasser lösliche **Berlinerblau,** Ranvier (89), in einer im Wasser gesättigten Lösung zu der wie in § 702 hergestellten **Gelatine** in der Wärme hinzugesetzt, liefert eine blaue Injektionsmasse. Hat man kein lösliches Berlinerblau, so kann man es sich in folgender Weise beschaffen (nach Ranvier): Man gieße gelbes Blutlaugensalz und Ferrosulfat in bestimmten Proportionen zusammen, es bildet sich ein blauer Niederschlag von unlöslichem Berlinerblau. Man filtriere die Flüssigkeit, und die blaue pulverige Masse bleibt auf dem Filter. Nun wasche man die auf dem Filter gebliebene Masse mit Wasser, bis das Filtrat blau gefärbt erscheint. (Es dauert unter Umständen 24 Stunden und länger). Das unlösliche Berlinerblau ist nun löslich geworden, und die auf dem Filter gebliebene breiige Masse kann getrocknet und als lösliches Berlinerblau benutzt werden.

Die mit Berlinerblau injizierten Stücke lassen ein nachheriges Fixieren mit Chromsäure, chromsauren Salzen etc. zu.

Blaß gewordene Stücke (oder Schnitte) erlangen ihre blaue Farbe in Nelkenöl wieder.

Behandelt man die mit Berlinerblau injizierten Stücke oder Schnitte mit einer Palladiumchlorürlösung, so geht die blaue Farbe in eine tiefbraune über, und diese Farbe bleibt unverändert (Kupffer).

Fertige Injektionsmassen sind durch Grübler und Co. zu beziehen.

704. Bearbeitet man mit Gelatinemassen injizierte Präparate (kleine Stücke) mit Osmiumsäure, so quellen sie nicht mehr in kaltem und lösen sich in heißem Wasser nicht mehr. Ranvier 85.

705. Gelatine, welche bei Zimmertemperatur flüssig bleibt, kann man nach Tandler durch Jodkaliumzusatz folgenderweise gewinnen: Man löst 5 g Gelatine in 100 g Wasser unter leichtem Erwärmen, fügt dann, je nach Bedarf, ob man eine dunkler oder heller gefärbte Masse herstellen will, Berlinerblau ein und setzt zuletzt langsam, unter Umrühren eintragend, 5 g Jodkalium hinzu. Die so gewonnene Masse ist bei 17° C flüssig. Setzt man noch mehr Jodkalium zu, so kann man die Masse bei noch tieferen Temperaturen flüssig erhalten.

706. Grosser empfiehlt als kalte Injektionsmasse filtriertes **Hühnereiweiß,** welches mit Tusche verrieben wird.

707. Es ist vor Jahren von Altmann (79) ein Verfahren vorgeschlagen worden, das in folgendem besteht:

Man injiziert Gefäße (z. B. der Niere, Iris, Chorioidea, Retina, Haut) mit **Olivenöl;** so injizierte Organe werden mit Osmiumsäure (siehe § 47) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäße schwarz färben. Die nicht durchsichtigen massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1% auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäße schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäße) sind so widerstandsfähig geworden, daß man allerdings mit großer Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit aqua Javelli behandeln kann, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise ist man imstande, mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäße und Kapillaren zu erhalten.

Solche Präparate können auch durch Wasser in Glyzerin oder durch Alkohol in Kanadabalsam übergeführt werden. Diese Prozedur erfordert aber eine besondere Sorgfalt, da die korrodierten Präparate ungemein brüchig werden.

708. Eine andere Methode, die sogenannte Fettimprägnation der Lymphwege, ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zweck entweder:

1.	Olivenöl	1 Volumen
	Alkohol abs.	½ »
	Schwefeläther	½ »

das Ganze muß klar aussehen, oder

2. Rizinusöl 2 Volumina
Alkohol abs. 1 Volumen.

Man lege frische Gewebsstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung von 1 oder 2. Nach 5—8 Tagen kommen die betreffenden Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 direkt auf einige Stunden in Wasser, wobei die äußerlich anhaftenden Fetteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Gewebsstücke auf 24 Stunden in eine 1 %ige Osmiumsäure und können, wie bei den Gefäßen, entweder direkt mit aqua Javelli corrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die **Korrosion** möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

709. Um Lymphkapillaren, resp. Lymphspalten, zu injizieren, wird die Methode der **Injektion durch Einstich** angewandt, die entweder mit Berlinerblau (siehe § 703) geübt wird, oder mit wässeriger Silbernitratlösung 1:1000 oder aber mit Silbernitrat, gelöst in Gelatine ($^1/_4$ auf 100) (Ranvier, 89). Man lege Gelatine auf 12 Stunden in eine reichliche Wassermenge, presse dann dieselbe mit den Händen möglichst gut aus und verflüssige dieselbe durch Erwärmen, dann erfolgt der Silbernitratzusatz.

10. Kapitel. **Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark.**

710. Für die grobe Orientierung über den Bau der **Lymphdrüsen** genügen Schnitte durch kleinere Drüsen, die dem Mesenterium einer Katze etwa entnommen und mit Alkohol, Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure fixiert worden sind.

An Schnitten, die mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt worden sind, kann man sich bequem über die Verbreitung der Mark- und Rindensubstanz orientieren; die Trabekel und die Kapsel erscheinen in der Eosinfarbe; für Bindegewebe färbe man nach § 299, 300, 301, 454, 455 oder 456.

Um das Endothel der Trabekel zur Darstellung zu bringen, spritze man von einem vas afferens aus, oder einfacher, durch Einstich in die Lymphdrüse, eine schwache, z. B. $^1/_{10}$ %ige Silbernitratlösung ein. Nach einer halben Stunde wird die Drüse in Alkohol fixiert. Schnitte, die nicht unter 15 μ dünn sein dürfen, zeigen die bekannte Endothelzeichnung auf den Trabekeln.

Zellige Elemente der Milz untersucht man an Strichpräparaten aus der frischen Milz, die man wie Blutpräparate behandelt.

711. Für das Studium der **Keimzentren** Flemmings empfehlen sich neben den Lymphdrüsen selbst die solitären Knötchen des Darmes. Lymphdrüsen oder Darmstücke werden am besten mit Flemmingscher Lösung fixiert und mit Safranin gefärbt.

712. Das **retikulierte** oder **adenoide** Gewebe ist an intakten Schnittpräparaten nur wenig oder gar nicht wahrzunehmen, an sehr dünnen Schnitten (1—3 μ) ist dasselbe aber gut zu sehen. An dickeren Schnitten kommt es erst dann zu Gesicht, wenn man die Zellen auf irgendeine Weise entfernt.

Schnitte durch Lymphdrüsen, die entweder frisch oder mittels eines Gefriermikrotoms angefertigt worden sind, werden auf einem Objektträger mit wenig Flüssigkeit ausgebreitet und mit einem feinen Malerpinsel vorsichtig betupft; die Leukozyten bleiben am Pinsel zum Teil hängen, und man kann das Präparat nachträglich etwa mit Hämatoxylin färben, wobei sich die adenoiden Netze blau tingieren. **Pinselmethode.** (His, 61.)

Aber auch an zuvor fixierten Präparaten, die geschnitten worden sind und einige Zeit im Wasser gelegen haben, kann man das Pinseln sowohl, wie die nächstfolgende Methode üben; sie ist ebenfalls von His angegeben und besteht darin, daß man Schnitte in einem zur Hälfte mit Wasser gefüllten Probiergläschen einige Zeit **schüttelt.** Setzten wir zum Wasser Froschgalle zu, so schien es uns, als ob wir in kürzerer Zeit bessere Resultate erzielten; es ist nicht unmöglich, daß ein Teil der in den Maschen des Retikulums gelegenen Elemente sich in der Galle löst. — Bei dieser Prozedur werden die meisten Leukozyten entfernt, und wenn man nun die Schnitte ausbreitet und färbt, so sieht man deutlich das retikuläre Bindegewebe.

713. Nach längerer Beleuchtung lebender Tiere mit **Röntgenstrahlen** schwinden die Lymphdrüsen fast ganz, und das cytogene Gewebe der blutbildenden Organe bleibt intakt. Solche Präparate sehen wie ausgepinselt aus, H. Heineke, Erich Meyer. Thies machte darauf aufmerksam, daß sich auch das cytogene Bindegewebe mit **Radiumbestrahlung** isolieren läßt.

714. Auch durch Verdauen der Schnitte mit **Trypsin** kann man das retikuläre Bindegewebe darstellen (s. § 471 ff.).

715. Flint J. M. verdaut in Stücken, um das Netzwerk in den Organen zu isolieren. Die Stücke, welche nicht über 3 mm dick sein dürfen, werden z. B. in Carnoyscher Flüssigkeit gehärtet. Formalin, Chromsäure und deren Salze, auch Osmiumsäure darf man nicht zur Fixierung benutzen. Man entwässere vollständig, lege die Präparate in Äther (Soxhlet-Apparat). Nach Extraktion der Fette werden die Stücke durch allmählich verstärkten Alkohol gezogen, während 24 Stunden ausgewaschen und in Pankreatin Grüblers, es werden davon nur ganz kleine Mengen genommen, übertragen. Es muß alle 48 Stunden gewechselt werden. Die Verdauung soll so lange dauern, bis alles Zellige verschwunden ist, was mitunter einen vollen Monat in Anspruch nimmt.

716. Retikuliertes Gewebe kommt in Lymphdrüsen, Milz, Schleimhäuten, Leber, Niere, Lunge vor und wird nach Mall (91) dargestellt, indem man in Pankreatin verdaute Schnitte auf einem Objektglas ausbreitet und eintrocknen läßt. Dann wird dasselbe mit einem Tropfen der Lösung befeuchtet: Pikrinsäure 10 g, absoluter Alkohol 150 ccm, Wasser 300 ccm. Dies läßt man wiederum eintrocknen, worauf man den Schnitt mit einigen Tropfen Säurefuchsin bedeckt und etwa eine halbe Stunde stehen läßt. (Säurefuchsin 10 g, absoluter Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm.) Das überschüssige Fuchsin wird dann abgegossen, der Objektträger für sehr kurze Zeit in die Pikrinsäurelösung gebracht und dann in absoluten Alkohol übertragen. Xylol, Kanadabalsam (ist im wesentlichen Altmanns Granulamethode, siehe § 358; vgl. auch §§ 473, 475 u. ff.).

717. Die Bielschowskysche Methode § 458 eignet sich sehr gut, namentlich an Lymphdrüsen, zur Darstellung des retikulären Gewebes. Färbt man nachträglich dünne Schnitte mit Hämatoxylin, so sieht man neben dem kernlosen Retikulum auch gleichzeitig das eigentliche cytogene Syncytium.

718. Um **Bindegewebe der Milz** klar zur Anschauung zu bringen, injiziert Woronin erst eine physiologische Kochsalzlösung in die Blutgefäße, art. oder vena lienalis, um Blut wegzuspülen, und erst dann eine passende Fixationsflüssigkeit auf demselben Wege nach. Dabei unterbindet er die bei der Herausnahme der Milz durch-

schnittenen Gefäße sorgfältigst und erhöht dann den Injektionsdruck, bis die Milz das 3—4fache des ursprünglichen Volumens angenommen hat. Die Kanüle wird abgebunden und das Organ in dieselbe Fixierungsflüssigkeit übertragen; es kollabiert in derselben nur wenig. Nach einiger Zeit wird es in Stücke zerlegt und weiter behandelt. Die Bestandteile der auf diese Weise behandelten Milz rücken auseinander, und es erscheinen, vom Blut nicht mehr verdeckt, das retikuläre Bindegewebe und die fixen Zellen in großer Deutlichkeit. —

Ein analoges Verfahren läßt sich auch auf das Studium der Tunicae propriae der Schleimhäute des Darmes durch Injektion der Blutgefäße des zu untersuchenden Bezirkes, auf die Untersuchung der Lymphdrüsen durch forcierte Injektion, durch Einstich in die Sinuse etc. anwenden. Man gewinnt so klarere Bilder, welche aber immer noch innerhalb der Norm liegen, da ja alle diese Organe großen Volumveränderungen angepaßt sind. — Färbung nach § 388 gibt sehr klare Bilder.

719. Bilder, welche sich zum Teil von denen unterscheiden, welche die eben beschriebenen Methoden liefern, erhält man bei Anwendung der in § 795 beschriebenen Silbermethode auf in Alkohol fixierte Stücke von Milz und Lymphdrüse. Vor Anwendung der Methode schneide man von den Stücken die Kapsel weg. In der Milz färben sich Fasern in der Pulpa, Fasern im Malpighischen Körperchen und eine besondere, auch die Gefäße überkleidende Rindenschicht des Malpighischen Körperchens (Oppel, 91). Im Knochenmark hat Enderlen mit derselben Methode ebenfalls ähnliche Fasern nachgewiesen.

720. Für die Untersuchung der Zellen würde man die verschiedenen Färbungen anzuwenden haben, die bei der Untersuchung des Blutes (siehe § 391 ff.) verwandt werden, auf Schnitte, oder indem man sich durch Abschaben einer frischen Schnittfläche Material verschafft, welches man ganz in der Weise, wie es bei Blut gesagt worden ist, behandelt.

721. Die Methode der Untersuchung der Milz ist ganz dieselbe wie die der Lymphdrüsen. Elastische (?) Fasern der venösen Kapillaren färbe man mit Orzeïn v. Ebner (99) (siehe § 463) oder nach Weigert, besser mit Bleu de Lyon, Bindegewebsfibrillen nach Hansen. Wie wir gefunden haben, färben sich die »Fadennetze«

Henles der Billrothschen venösen **Kapillaren** in der **Milz** nicht nur mit Orzeïn und nach dem Weigertschen Verfahren (siehe § 461), sondern auch nach dem Hansenschen Verfahren (siehe § 454).

Die Injektion der Milzgefäße gehört zu den schwierigsten Problemen der Injektionstechnik, ein Umstand, der in der Anordnung und Beschaffenheit der Blutgefäße gelegen sein mag.

722. Zum Nachweis von nicht organisch gebundenem **Eisen** in Schnitten der Milz, überhaupt eisenhaltiger Organe, empfiehlt sich die Berlinerblaureaktion (nach dem Verfahren von Wicklein, 89). Am besten nicht aufgeklebte Schnitte in Alkohol fixierter Präparate werden mittels Glashäkchen in ein 25 ccm 1%iger Salzsäure enthaltendes Glasschälchen gebracht, unmittelbar darauf mittels einer Pipette 3 Tropfen einer frisch zubereiteten kalt gesättigten wässerigen Lösung von Ferrocyankalium hinzugesetzt, es wird umgerührt und 5 Minuten gewartet. Dann kommen die Schnitte in reichliche Mengen mehrfach zu erneuernden destillierten Wassers (etwa $^1/_4$ Stunde) und werden ev. mit Alaunkarmin nachgefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen. In solchen Schnitten ist alles eisenoxydhaltige Pigment geblaut.

723. Als eine kombinierte Methode gab Tartakowsky für **Eisennachweis** in den Geweben folgendes Verfahren für Stücke an. Kleine Organstücke kommen auf 24 Stunden in **Hallsche Flüssigkeit** (95 ccm von 75%igem Alkohol, 5 ccm Schwefelammonium), dann in reinen 95%igen Alkohol, dem einige Tropfen Schwefelammonium zugefügt sind (Saleski). Es tritt genügende Härtung ein, und bei Gegenwart von Eisen nehmen die Stücke schwarzgrüne bis schwarze Färbung an. Das Schwefeleisen wird nun in Berlinerblau übergeführt; die Stücke kommen aus dem Alkohol in dest. Wasser, dann auf 15—20 Minuten bei größeren Stücken auf eine halbe Stunde, in 1,5%ige Ferrocyankaliumlösung und dann auf 5—10 Minuten in 0,45%ige Salzsäurelösung. In der Salzsäure werden die Stücke etwas trüb, wenn sie jedoch einige Stunden mit dest. Wasser gewaschen werden, so tritt die Blaufärbung deutlich hervor. Nun fixiert man beliebig (nicht Formol), schließt in Paraffin ein und schneidet usw.

724. Eine Methode, bei welcher neben **Eisen** Kerne und Fett gefärbt werden können, rührt von Wallart her. A. 2 g Karmin werden in 10 ccm Wasser und 8 Tropfen

reiner Salzsäure unter Kochen gelöst, 40 ccm abs. Alkohol zugesetzt und tüchtig umgerührt, das Ganze wird noch warm filtriert und das Filtrat bis auf 50 ccm aufgefüllt. B. Gesättigte Lösung in Sudan III oder Fettponceau in 80—90%igem Alkohol. C. 1 g Ferrocyankalium wird in 20 ccm dest. Wasser unter Erwärmen gelöst, also eine 5%ige Lösung. Nun mischt man im Verhältnisse 2 ccm von Lösung A, 2 ccm von Lösung B und 2—3 Tropfen reiner Salzsäure; zuletzt fügt man noch 2 ccm von Lösung C hinzu. Wird die Mischung trüb, so wird sie filtriert. Die in Formol in gewöhnlicher Weise fixierten Objekte werden auf dem Gefriermikrotom geschnitten, die Schnitte im Wasser aufgefangen, kurz in 50—70%igen Alkohol mit oder ohne 1% Salzsäure getan und dann 3—15 Minuten in der Mischung belassen. Hierauf folgt ein bis ½ Minute langes Abspülen in 1%iger Salzsäure in 50—70%igem Alkohol, Waschen in Wasser und Einlegen in Glyzerin. Man könnte dieselben Resultate auch bei einer Behandlung nacheinander erzielen, dabei würde das Pigment sogar lebhafter gefärbt erscheinen, aber die vorgetragene Methode ist ungemein einfach und nimmt viel weniger Zeit in Anspruch.

725. Die Behandlung der Schnitte mit **Schwefelammonium,** wobei **Eisen** schwarz wird, diene zur Kontrolle.

Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens s. Erich Meyer 06.

Knochenmark siehe §§ 525, 527, 529 und 719.

726. H. Heineke hat nachgewiesen, daß nach mehrstündiger Beleuchtung mit Röntgenstrahlen die spezifischen Zellen des Knochenmarkes in einer bestimmten Reihenfolge zugrunde gehen und die Stützelemente, cytogenes Gewebe, übrig bleiben.

11. Kapitel. **Darm und Drüsen.**

727. Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Alkohol, Sublimat, Flemmingscher Lösung, und bietet an mit Karmin usw. gefärbten Präparaten instruktive Orientierungsbilder.

Faßt man Spezielles ins Auge, will man beispielsweise das Epithel oder die Drüsen usw. eingehender untersuchen, so würde man dementsprechend die Methoden zu modifizieren haben.

728. Die **Speichelkörperchen** zeigen molekulare Bewegung, welche aber keine Lebensfunktion darstellt: sie wird nämlich durch Narkose nicht beeinflußt. Ebenso sind die Molekularbewegungen in den weißen Blutzellen zu beurteilen. Hagem Clara.

729. Die Papilla circumvallata und foliata (seltener fungiformis) sind Träger von **Geschmacksknospen,** welche aus Stütz- und Sinneszellen zusammengesetzt sind; diese werden bei weitem am besten mit der Flemmingschen Lösung fixiert.

Dünne Schnitte, die entweder längs durch die Knospe oder quer durch dieselbe (sehr genaue Orientierung erforderlich) geführt worden sind, werden entweder mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung oder mit Safranin-Gentianaviolett (siehe § 856) gefärbt.

730. Will man die **Nerven** bis zu den **Schmeckbechern,** resp. den Epithelien, verfolgen, so bedient man sich der Golgischen Methode (siehe § 654 ff.), der vitalen Methylenblaufärbung (siehe § 622 ff.), nach R. y Cayal § 671, oder man verfährt in folgender Weise:

Eine **Papilla foliata** eines Kaninchens wird mit einem Rasiermesser flach abgeschnitten, in vorher filtrierten Zitronensaft auf 10 Minuten eingelegt und auf 40 bis 60 Minuten in Goldchlorid übertragen. Überträgt man nun die Papille in ein schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser, so vollzieht sich die Reduktion im Lichte (Ranvier), und es kann das Objekt mit Alkohol nachbehandelt und dann senkrecht auf die Leisten der Papille geschnitten werden. Nachdem die Schnitte eine kurze Zeit mit Ameisensäure, worin sie etwas quellen, behandelt worden sind, wird das Präparat in Glyzerin eingeschlossen.

731. Für alle **Drüsen** achte man darauf, daß man es hier nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu tun hat. Die Drüsenzelle bietet ein ganz anderes Bild, wenn sie sezerniert oder einige Zeit sezerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien derselben herauszugreifen und besonders zu untersuchen, z. B. für Magen im 1., 2. und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher), und die verschiedenen Bilder vergleichend zu studieren haben.

732. Geeignetes Material verschafft man sich, indem man **Tiere** zunächst **hungern** läßt, dann füttert und nach

bestimmten Zeiten tötet. Hierzu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich vermittelst eines kleinen Glastrichters, z. B. mit defibriniertem Blut, füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läßt, z. B. **Nervenreizung** und gewisse Gifte.

733. Von großer praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie **Pilokarpin** und **Atropin,** da bei Atropin-Intoxikation die Sekretion unterdrückt, bei Pilokarpin befördert wird; auf diese Weise bekommt man geladene und erschöpfte Drüsenzellen. Die beiden Gifte werden in folgenden Dosen beim Kaninchen pro Kilo Tier angewendet: Pilokarp. hydrochlor. 1 ccm einer 5%igen Lösung; Atropin. sulf. 1 ccm einer 0,5%igen Lösung.

734. Drüsen können an geeigneten Objekten **frisch** untersucht werden, z. B. Schleimdrüsen an der Nickhaut des Frosches (s. § 770).

735. Zur **Fixierung** kleiner Stücke von Speichel**drüsen** verwende man Flemmingsche Lösung oder auch Sublimat.

736. Solger (96) empfiehlt für Untersuchung frischer **Drüsen Gefrierschnitte** (nach dem Vorgang von Kölliker) ohne Zusatzflüssigkeit zu untersuchen; Umrandung des Deckgläschens verhütet Verdunstung. Die hier sichtbaren Sekretgranula seröser Drüsen erhalten sich nach Fixierung in 10%iger Formalinlösung (3 Tage), auch in Sublimat und Altmanns Osmiumbichromatgemisch.

737. Zur Darstellung der **Sekretkapillaren** seröser Drüsenzellen und der **Giannuzzi**schen Halbmonde dient die rasche Golgische Methode (siehe § 656) und M. Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung (siehe § 266), letztere mit nachfolgender oder vorausgehender Rubinfärbung. Auch Ehrlich-Biondis Triazidgemisch (siehe § 309) führt zum Ziel.

Zur Färbung der Giannuzzischen Halbmonde empfehlen sich auch Doppelfärbungen von mit Alkohol, Sublimat etc. fixierten Stücken, z. B. Hämatoxylin- und Eosinfärbung, wobei die Halbmonde blau erscheinen.

738. Die Zellen der **Schaltstücke** v. Ebners färben sich mit Karmin und mit Hämatoxylin intensiver als die übrigen der Drüse.

739. Die Strichelung der basalen Teile der Epithelien der **Speichelröhren** in Speicheldrüsen sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbten und in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten, in Kanadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich. Das gestrichelte Epithel der Speichelröhren färbt sich mit Hämatoxylin-Kongorot (§ 750) rotbraun.

740. An der Mehrzahl der Speicheldrüsen (nicht an der Parotis des Kaninchens oder Sublingualis vom Hund z. B.) lassen sich durch Schütteln (um den Zutritt der Luft zu begünstigen) kleiner Stücke derselben mit Pyrogallussäure, die Speichelröhren dunkelbraun färben (Kalkreaktion); die Farbe hält sich in Alkohol (Merkel, 83).

741. Ösophagus. Für Übersichtsbilder wähle man den Ösophagus kleinerer Tiere. Von größeren Säugern muß man entweder die Schleimhaut abpräparieren und diese allein schneiden, oder mit Zelloidin durchtränken, da sich Schnitte, z. B. durch ein Stück des ganzen Ösophagus des Menschen, in Paraffin nur schwer herstellen lassen.

742. Für **Magen und Darm** dienen die gewöhnlichen Fixierungsmethoden, vor allem Sublimat. Stets lege man einige Kontrollstücke in Alkohol ein. Man nehme möglichst frische Objekte, bei welchen noch keine Selbstverdauung stattgefunden hat. Man fixiere kürzere Stücke ganz oder schneide den Darm auf. Abwaschen mit Wasser kann schaden.

Will man größere Darmstücke in toto fixieren, so fülle man den Darm mittels einer geeigneten Spritze, die man in das eine Ende einbindet, mit Fixierungsflüssigkeit, z. B. Sublimat (Glasspritze), nachdem man das andere Ende zugebunden hat; ist er mäßig gefüllt, so binde man vor der Spritze auch zu und lege den Darm in eine reichliche Menge derselben Fixierungsflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

Übersichtsbilder über die Verteilung der Drüsenregionen des Magens (auch unter Erhaltung des Oberflächenepithels) bekommt man am besten mit Sublimat (Glasspritze). Will man Schnitte durch einen ganzen Magen (man wähle anfangs kleine Tiere) anfertigen, so empfiehlt es sich, in den fixierten Magen Fenster einzuschneiden, um das Eindringen der Durchtränkungsflüssigkeiten zu erleichtern.

743. Für spezielle Untersuchung der Mukosa empfiehlt es sich, dieselbe mit einem scharfen Messer abzupräparieren und dann mit Nadeln auf einer Korkplatte auszuspannen. Die Korkplatte läßt man auf der Fixierungsflüssigkeit mit der Präparatseite nach unten schwimmen.

744. Magen-Drüsenzellen. Besonders für Sublimatschnitte ist die Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin geeignet. Eosin färbt bei niederen Vertebraten die gekörnten Drüsengrundzellen, während die Halszellen hell bleiben; bei Säugern färbt es die Belegzellen. Überhaupt scheinen die sauren Aniline die Belegzellen zu färben, und es können dabei die roten mit Hämatoxylin und die blauen mit Karmin kombiniert werden.

745. Für die Beurteilung des Materials sind folgende Daten nötig: Im Hunger sind die Belegzellen klein, die Hauptzellen mittelgroß mit basalständigem Kern und wenigen Granulationen im Zelleib (hell). In der 5. Verdauungsstunde schwellen die Belegzellen etwas an und runden sich ab, die Hauptzellen werden ebenfalls größer. 13 Stunden nach der Mahlzeit werden die Belegzellen und die Hauptzellen etwas kleiner, letztere erscheinen aber granuliert, dunkel (R. Heidenhain). Nach geringen Pilokarpingaben erscheinen die Hauptzellen groß und hell, nach größeren dagegen klein und granuliert; dabei bleiben die Belegzellen unverändert. Chloroform bewirkt Granulationen in den Belegzellen (Fichera). Während der Tätigkeit des Organs nehmen die Granula der Hauptzellen ab, um in der ruhenden Zelle anzuwachsen; ob die Anzahl der Granula hierbei im Spiele ist (Langley und Lewall) oder nur das Volumen derselben sich ändert (Noll und Sokoloff), ist eine andere Frage.

746. Man unterlasse nicht, die **Magendrüsenzellen frisch** in isotonischen Lösungen zu untersuchen; die Magenzellen werden mehr wie andere Zellarten durch Fixierungsflüssigkeiten verändert. Besonders empfindlich sind die Belegzellengranula.

747. Korbförmige **Sekretkapillaren** werden an den **Belegzellen** durch die Golgische Methode dargestellt. (E. Müller, 92). Zimmermann (98) fixiert dieselben mit Kochsalz. In physiologische Kochsalzlösung 100 und Alkohol 96 %ig 200 werden die Schnitte für 10—15 Minuten eingelegt (häufig umrühren); Chromsilber geht in Chlorsilber über, die Schnitte bleiben dann in 75—96 %igem Alkohol einen

halben Tag im Licht stehen. Nachfärben mit Hämatoxylin und Eosin oder Säurefuchsin.

748. Mineralsäuren (Salpeter-, Schwefel-, Salzsäure 0,5—5 %) trüben und machen schrumpfen sowohl die Beleg-, als die Hauptzellen (Salpetersäure von weniger wie 0,5 % bringt die Belegzellen zum Aufquellen, ebenso Essigsäure von 0,5—5 %) mit steigender Konzentration in immer höherem Grade. Spült man die Säure aber mit Wasser ab, so hellen sich die Belegzellen unter Quellen auf, die Hauptzellen bleiben trüb und scheinen noch weiter zu schrumpfen (R. Heidenhain, 70).

749. Osmiumsäure und Kaliumbichromat haben beide die Eigenschaft, Belegzellen granuliert und die Hauptzellen mehr homogen erscheinen zu lassen. Vielleicht deutet das granulierte Aussehen der Belegzellen auf die Anwesenheit einer freien Säure hin. § 27.

750. Hämatoxylin-Kongorot. Schnitte der in Alkohol oder Sublimat fixierten Fundusschleimhaut werden 1 bis $1^1/_2$ Minuten in Böhmersches Hämatoxylin gebracht, einige Sekunden in 1 ‰ige wässerige Salzsäure, sodann mehrere Minuten in Wasser, oder wenn man eine stärkere Blaufärbung der Kerne und der Hauptzellen beabsichtigt, direkt in Wasser abgespült. Darauf kommen sie für 2—5 Minuten in eine verdünnte (im Uhrschälchen sattrot, aber gut durchsichtige) wässerige Lösung von Kongorot, aus dieser so lange in Wasser oder verdünnten Alkohol, bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Absoluter Alkohol zieht den Farbstoff sehr langsam aus. Belegzellen erscheinen dann rot und die Hauptzellen bläulich. Auch die eosinophilen Zellen können mit Kongorot dargestellt werden (Stintzing, 99).

751. Magen- und Darmepithelien können mittels der in § 368 ff. angeführten Isolationsmethoden untersucht werden; besonders eignet sich hierfür die 1 ‰ige Osmiumsäure.

Das Ausfließen der freien Enden der Magenepithelien, welches bei Anwendung vieler Fixierungsflüssigkeiten erfolgt, kann man durch Fixieren mit Sublimat verhüten. Für Darmepithelien empfehlen sich Osmiumsäuregemische, speziell die Flemmingsche Lösung.

752. Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken, doch beachte man § 482.

Ewalds Isolationsmethode und die Zentrifuge (siehe § 375 und 377) eignen sich sehr gut für Demonstration

des Fettes in isolierten Darmepithelien nach Fettfütterung (Kaninchen).

753. Bei Untersuchung der Fettresorption ist zu beachten, daß das Fett, wie durch die Fütterungsversuche Biedermanns (98) mit alkannisiertem Fett nachgewiesen ist, vor seiner Aufnahme in die Zylinderepithelien in seine Bestandteile, Fettsäuren, bzw. Seifen und Glyzerin, wasserlösliche Verbindungen, zerlegt wird. — Man muß ferner bedenken, daß die Darmepithelzelle den größeren Teil des Fettes in derselben Form weitergibt, in welcher sie ihn gebildet hat. Es hätten dann die in den Darmepithelzellen und in fast allen Geweben des Darmes nachweisbaren Fettröpfchen, die zweifellos gleichfalls aus den resorbierten Spaltungsprodukten des Fettes entstanden sind, doch eine ganz andere, dem eigentlichen Wesen der direkten Fettaufnahme mehr fernstehende Bedeutung. Die Synthese zu Neutralfett findet in den Zellen des Darmes in Trophoplasten ähnlichen Gebilden statt. Altmann, Frank.

754. Man kann dieselben Granula, welche die Fettsynthese besorgen, nach G. Schmidt vital färben. Füttert man einen Frosch mit 0,1—1 %iger Methylenblaulösung, tötet ihn nach 4 Stunden, schneidet den Darm auf und spült ihn mit **Ringerscher Flüssigkeit** (8 Kochsalz, 1 doppelsaures Natron, 1 Chlorcalzium, 0,075 Chlorkalium auf 1000 Wasser), so beobachtet man eine intensive Granulafärbung. Um diese zu fixieren, muß man folgende Operationen durchmachen: 1. Einlegen auf 24 Stunden in pikrinsaures Ammoniak und 2 %ige Osmiumsäure 4 : 2; 2. 6 Stunden in 10 %iges Ammoniummolybdat; 3. 2stündiges Auswaschen in fließendem Wasser; 4. Durchführen sehr kleiner Stücke durch 70, 90, abs. Alkohol, welche mit pikrinsaurem Ammoniak vorher gesättigt wurden, je 5 Minuten; 5. Zedernholzöl, welches man öfters wechselt, 24 Stunden; 6. Zedernholzöl mit Paraffin gesättigt im Thermostaten, 24 Stunden; 7. Paraffin und Paraffineinbettung. Es sind dieselben Granula, welche bei Fettresorption tätig sind, welche Methylenblau aufspeichern, Elaioblasten, Gebilde, welche mit Chromophoren und Trophoplasten zum Teil verglichen werden können.

755. Zotten können frisch untersucht werden in indifferenten Lösungen (s. § 11 ff.); namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hierfür.

Bei allen Fixierungsmethoden hat man mit Kontraktion der axialen Muskeln der Zotten zu rechnen, welche

zur Ablösung des Epithels und ähnlichen **Artefakten,** Grünhagensche Räume, Heizmannsche Spitzenlöcher, führen kann. Verhältnismäßig gute Resultate erzielt man mit Osmiumsäure.

756. Nicht aufgeschnittene Därme weisen weniger oder keine Epithelablösungen auf, da die Muskulatur, bis die Fixierungsflüssigkeit die Zotten erreicht hat, abgestorben ist. Ist der Darm aufgeschnitten, so fixiere man ihn nicht sofort, sondern lasse ihn, vor Austrocknung geschützt, liegen. Nach einer halben Stunde kontrahieren sich die Muskeln in der Regel nicht mehr. Auch an Muskelgifte, mit welchen vor der Fixierung das zu opfernde Tier getötet wird, ist in schwierigen Fällen zu denken.

757. Das **Muzin** in Schleimdrüsen und Becherzellen des Darmes verschiedener Tiere wird durch die basischen Teerfarbstoffe (im Sinne Ehrlichs, s. § 272) mehr oder weniger intensiv gefärbt, z. B. durch Methylenblau und Thionin (vgl. Hoyer, 90).

758. Nach Langley, Proc. Physiol. Soc. 2, 89, äußert sich die stark quellende Wirkung von Alkohol auf frische **Schleimgranula** bis zur Konzentration von 70%; stärkerer Alkohol läßt die Granula zu unregelmäßigen Formen schrumpfen. Dieselbe Wirkung äußert 0,5—2% Osmiumsäure. Auch Xylol, welches man beim Einschließen in Paraffin gebraucht, soll nicht indifferent sein.

Farblösungen zur sicheren Schleimfärbung verdanken wir Paul Mayer (96):

759. Muzikarmin. Karmin 1 g, Chloraluminium 0,5 g, dest. Wasser 2 ccm über kleiner Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzen, bis das Gemisch ganz dunkel geworden. Dazu 100 ccm Alkohol von 50%. Diese Stammlösung ausnahmsweise entweder direkt oder nach Verdünnung auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ mit Alkohol von 50 oder 70% zu gebrauchen, in der Regel aber mit (destilliertem oder) gewöhnlichem Wasser auf $^1/_{10}$ zu Muzikarmin (Gehalt an Karmin $^1/_{1000}$) zu verdünnen. Diese Farbe soll in den Schnitten oder dünnen Membranen nur den Schleim rot färben. Eventuell zur Nachfärbung nach Hämalaun.

760. Sind auch die Kerne gefärbt, so enthält die Farbe freie Säure, und man neutralisiert sie dann durch Zusatz von 1%igem doppelkohlensaurem Natron tropfenweise.

761. Muchämatein. Hämatein 0,2 g zu zerreiben mit einigen Tropfen Glyzerin, dazu Chloraluminium 0,1 g,

Glyzerin 40 ccm, dest. Wasser 60 ccm. — Spirituöse Lösung: Hämatein 0,2 g, Chloraluminium 0,1 g, Alkohol (von 70%) 100 ccm, Salpetersäure 1—2 Tropfen. Auch diese Lösung zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen.

762. Das Muzin löst sich in verdünnten Alkalien, z. B. in Kalkwasser, und kann aus diesen Lösungen mit Essigsäure gefällt werden. Der Niederschlag löst sich im Überschuß der Essigsäure nicht. Durch Alkohol wird Muzin gefällt, beim Kochen nicht. Muzinogen färbt sich nicht mit Hämatoxylin, wohl aber das Muzin selbst. Man kann durch diese Methoden eine tätige und eine ruhende Drüse unterscheiden. R. Heidenhain (80).

Bei der Untersuchung des Schleimes haben wir im Auge zu behalten, daß diejenigen Muzine, welche man bisher rein darzustellen vermochte (Muzin der Submaxillardrüse vom Rind, Muzin der Sehnenscheiden und des Nabelstranges, sowie die Muzine der Weinbergschnecke), zwar die wesentlichsten Eigenschaften gemein haben, jedoch durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse voneinander abweichen.

763. Die **Panethschen Zellen** kommen in allen Abschnitten des Dünndarmes, im Caecum und im Appendix, nicht aber im Kolon, vor. Sie wurden bei Schwein, Hund und Katze nicht gefunden, wohl aber bei Menschen, Kaninchen, Maus, Rind, Schaf. Die Granula der Panethschen Zellen färben sich nicht mit Muzinfarben; sie färben sich mit Eisenhämatoxylin, Rubin S usw. Der basale Teil dieser Zellen ist basophil und färbt sich z. B. mit Toluidinblau. Klein 06.

764. Für die Untersuchung der Tunica propria vgl. § 712 u. ff.

765. Stützgewebe des Darmrohres. Zum Studium der Verteilung der elastischen Fasern dient die Orzeinfärbung (siehe § 463) und das Weigertsche Verfahren (siehe § 461), für die Anordnung der Bindegewebsfibrillen die Hansensche Färbung (siehe § 454, auch § 458.)

766. Bei Stückfärbung mit Boraxkarmin mit folgender Schnittfärbung in wässeriger 2‰iger Lösung von Indulin 4 Stunden werden nach Maas (99) im Darm (Myxine) Kerne rot, Plasmazellen und Muskularis rosa, Bindegewebe tiefblau. — Ferner erzielt Maas (99) durch Stückfärbung in etwa 2%iger Lösung von Kongorot 2—3 Stunden, Ausspülen und schnelles Durchziehen durch schwächeren Alkohol zu Alkoh. abs. mit folgender Schnittfärbung in stark ver-

dünntem (durchsichtigem) Böhmerschem Hämatoxylin 5 bis 10 Minuten Differenzierung des Bindegewebes.

767. Zum Studium des Darmstützgewebes empfiehlt Maas (99) bei Trypsinverdauung, dem Pankreasextrakt (vom Schwein) Kongorot zuzusetzen, so daß mit dem Ende des Versuches das unverdaute Bindegewebe bereits gefärbt vorliegt. Verdaut man statt bei gewöhnlicher Temperatur in der Wärme (bei 37—42°), so sind im Gegenteil nach 2 Stunden alle bindegewebigen Bestandteile gelöst, alle zelligen noch erhalten (nach 4—5 Stunden werden auch diese gelöst). Man hat also nach Maas (99) im Pankreassaft nicht nur ein Mittel, Bindegewebe von den zelligen Elementen getrennt zu erhalten, sondern auch diese isoliert vom Bindegewebe darzustellen (fixiertes Material).

768. Material für Untersuchung der **Noduli** (siehe auch § 711 ff.). Besonders geeignet sind Peyersche Noduli, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit Flemmingscher Lösung behandelt werden. Dünndarm, Caecum vom Meerschwein, Kaninchen; Processus vermiformis vom Menschen enthält eine kontinuierliche Reihe von Noduli.

So behandelte Noduli können geschnitten und gefärbt werden, wobei man Beziehungen zwischen den basalen Enden des Epithels und dem darunter liegenden Gewebe sieht (namentlich in Kanadabalsampräparaten).

769. Die Darmschleimhaut junger Tiere ist reicher an zytogenem Gewebe wie die der alten; im Alter nimmt das zytogene Gewebe fortwährend ab. Die Menge des zytogenen Gewebes ist bei verschiedenen Tieren verschieden: am reichsten daran sind Schwein, Mensch und Affe, weniger reich die Einhufer, Wiederkäuer und Fleischfresser. Ellenberger, 06.

770. Frische Pankreasstückchen, in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig ausgebreitet, lassen die Körnchen der Innenzone erkennen (Kühne und Lea, 74).

771. Um die **Innen- und Außenzone der Pankreasdrüsenzellen** durch Färbung darzustellen, gibt es zwei Wege, entweder färbt man die Innenzone oder die Außenzone.

Zur Färbung der Außenzone hat R. Heidenhain (80) vorgeschlagen, in Alkohol fixierte Stücke mit ammoniakalischem Karmin oder mit Hämatoxylin zu färben (Boraxkarmin gibt ebenfalls gute Resultate).

Zur Färbung der Körnchen der Innenzone empfehlen sich für Sublimatpräparate Methylgrün-Eosin-Mischung (s. § 305) oder Methylgrün-Fuchsin-S-Mischung (s. § 306) oder das Ehrlich-Biondische Triazidgemisch (s. § 309).

Die Körnchen werden dann rot, während die Außenzone hell bleibt. Material: besonders geeignet sind Amphibien (Salamander), weniger geeignet Säugetiere, besser im Hungerzustand.

Bei Behandlung mit Flemmingscher Lösung, Färbung mit Safranin und Auswaschen mit Pikrinsäure, färben sich die Körnchen der Innenzone rot.

772. Mit der Golgischen Methode (s. § 656) lassen sich auch Sekretions- und Ausführungswege verschiedener Drüsen, z. B. Magendrüsen, Pankreas und Speicheldrüsen, zur Darstellung bringen.

773. Auerbachscher und Meißnerscher Plexus. Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode (s. § 608) darstellen. Aber auch in Alkohol fixierte aufgespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen, z. B. der Ehrlichschen (s. § 257), gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus. (Auch ältere Methoden, Holzessig, verdünnte Essigsäure, führen zum Ziele). An Schnitten wende man die Bielschowskysche Methode für periphere Endorgane an. § 691.

12. Kapitel. Leber.

774. Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst die leicht zu erlangende Schweinsleber. Diese zeigt annähernd kugelige Läppchen, die durch sehr viel interlobuläres Bindegewebe voneinander geschieden sind. Die **Leber** des Menschen (Rind, Kaninchen, Meerschweinchen etc.) zeigt keineswegs so gut abgegrenzte Läppchen; diese konfluieren sehr oft miteinander zu doppelten und dreifachen Läppchen, die dann gemeinsam vom interlobulären Bindegewebe umgeben werden, welches unter Umständen sehr schwach entwickelt ist.

Das Besehen der Leber von Embryonen und Föten bietet insofern ein Interesse, als man dabei erfährt, daß die Gliederung in Läppchen garnicht oder weniger, als bei der definitiven, ausgeprägt ist und daß sie, im Gegensatze zur definitiven Leber, reich an zytogenem Gewebe ist.

775. Die Wahl der Methoden richtet sich danach, ob man die Leberzellen, die Blutgefäße, die Gallenkapillaren oder das Bindegewebe der Leber im Auge hat. Instruktive Übersichtsbilder liefern fast alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Hämatoxylinfärbungen liefern die instruktivsten Bilder. Mit Flemmingscher Chrom-Essig-Osmiumsäure erzielt man gut erhaltene Einzelheiten der Zellstruktur.

776. Bei Ankleben der Leber mit Wasser oder Eiweiß lösen sich die Schnitte aus unbekannten Gründen oft stückweise ab. Bei sehr wertvollen Objekten wäre auf § 187 Rücksicht zu nehmen.

777. Leberzellen und **Leberzellenbalken** isoliert man nach Heidenhain, 03, indem man von den frischen Schnittflächen einer nicht fetten Leber mit einem Skalpell schabt, das Geschabte mit $^1/_3$ Alkohol 24 Stunden behandelt und auf der Zentrifuge isoliert § 377. Kaninchen haben, nach Levi, sehr große, 24 μ messende Leberzellen.

778. Leberzellen einer Leber, welche man 24 Stunden nach dem Tode einem nicht eröffneten Tiere entnimmt, lassen sich viel leichter, als die eines eben getöteten, durch Zupfen isolieren.

779. Die **Blutgefäße** der Leber werden gewöhnlich von der Pfortader aus injiziert (siehe § 701 ff.), nachdem man die Vena Cava inf. unterbunden hat. Doch ist die Injektion auch von der Arterie und von den Venen aus möglich.

780. Auch die **Gallenwege** kann man vermittelst der Injektionsmethode zur Darstellung bringen, am besten mit in Wasser löslichem Berlinerblau, und zwar mit einer konzentrierten Lösung. Man injiziert entweder vom ductus hepaticus oder vom ductus choledochus aus. Die Injektionsmasse gerät im letzteren Falle zunächst in die Gallenblase und erst, nachdem diese prall gefüllt ist, verbreitet sie sich durch den ductus hepaticus in die Leber. Es wird auf diese Weise ein zu hoher Druck unmöglich, da die Gallenblase die Regulierung des Druckes übernimmt. Die Resultate dieser Injektion sind gar zu oft nicht befriedigende. Man hat mit Extravasaten zu kämpfen, und im günstigsten Falle sind an ganz beschränkten Stellen der Leber kleine Distrikte des Läppchens, gewöhnlich die der Peripherie, injiziert. Bei kleinen Tieren injiziert Ranvier die Gallenkapillaren von der Gallenblase.

781. Heilmeyer war einer der ersten, der die Gallenkapillaren durch Färbung dargestellt hat. Er hat sie nach der Methode § 676, 2. Hälfte, dargestellt.

782. Eine andere historisch ältere ist die sog. Methode der **physiologischen Selbstinjektion**, von Chrzonszczewsky (64 und 66) angegeben. Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung des Indigokarmins (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, ausgewachsenes Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von $1^1/_2$ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit absolutem Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäße der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus ausspritzt. Man kann auch nachträglich die Gefäße mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt alsdann mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallenkapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäße nebeneinander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

783. Beim Frosch läßt sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

784. Darstellung der **Gallenkapillaren** mit **dichromsaurem Silber.** (Böhm A., siehe Kupffer, 89.) Frische Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm groß sein dürfen, werden auf 3mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen: 3%ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Volumina, 1%ige Überosmiumsäure-Lösung 1 Volumen. Hieraus auf 24—48 Stunden in eine $^3/_4$%ige wässerige Silbernitrat-Lösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser abgespült, in Alkohol kurz nachgehärtet und geschnitten. Die Gallenkapillaren erscheinen deutlich markiert.

785. Ein Stück Leber eines eben getöteten Tieres wird mit Kalium bichromicum in von 2 auf 5% rasch ansteigender Lösung fixiert. Nach drei Wochen bringe man

das Stück in eine $^3/_4$%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach wenigen Tagen, nach acht Tagen sehr ausgebreitet, färben sich die **Gallenkapillaren** (Oppel, 90).

786. Braus (96) imprägniert die Gallenkapillaren mit Argentum nitricum nach Anwendung von Mischungen von $^1/_3$%iger Chromsäurelösung und Formol oder einem Gemisch von Müllerscher Flüssigkeit und Formol (75 Volumprozent Chromlösung und 25 Volumprozent 40%iger wässeriger Formaldehydlösung, besonders für fettreiche Lebern). Oft kann ein Erfolg durch wiederholtes Überführen der Stückchen von Chromlösung in Silber noch nach Wochen erzielt werden. Vgl. auch das von Kopsch (96) angegebene Verfahren in § 659 (Kaliumbichromat-Formol).

787. Die Färbung der Gallenkapillaren ist nach der M. Heidenhainschen Eisenhämatoxylin-Methode (siehe § 266), sowie mit dem Ehrlich-Biondischen Triazidgemisch (siehe § 309) möglich. Vgl. darüber R. Krause (93), E. Müller (95).

788. F. Behrens (98) empfiehlt zur Darstellung der Gallenkapillaren: Formolschnitte werden mit Merkelscher Beize (Chromalaun 2,5 Teile in 100 Teilen Wasser gekocht, dazu 5 Teile Eisessig und 5 Teile Kupferazetat) 4 bis 5 Tage gebeizt, dann mit Kaliumpermanganat oxydiert und mit Natriumsulfit und Ameisensäure reduziert, mit Wasser abgespült und in Methylviolett gefärbt. — Der Inhalt der Gallenkapillaren wird durch Formalin für Wasser und Alkohol schwer löslich gemacht. So bleiben die Gallenkapillaren mit ihrem Inhalt voll erhalten.

789. Darstellung des **Bindegewebes der Leber** nach Kupffer (76) hat nun bloß ein historisches Interesse.

Aus der frischen Leber mittels des Doppelmessers angefertigte Schnitte werden in 0,6%iger Kochsalzlösung abgespült oder aber, und das empfiehlt sich mehr, eine Viertelstunde lang mit verdünnter Chromsäurelösung (0,05%) behandelt, hierauf in eine stark verdünnte Goldchloridlösung nach Gerlachs Vorschrift

1 Teil Goldchlorid,
1 Teil Salzsäure und
10000 Teile Wasser

übertragen und verbleiben in der Lösung, unter Ausschluß des Lichtes, bis sie sich rot oder rotviolett gefärbt haben. Ist diese Färbung in 48 oder mehr Stunden erreicht, so sind die Schnitte unmittelbar darauf zur Beobachtung zu verwenden.

Starke Lösungen des Goldsatzes von $^1/_4$ bis $^1/_2$% und dementsprechend kürzere Behandlung der Schnitte mit der Lösung sind für den vorliegenden Zweck nicht geeignet. Das vorausgegangene Abspülen der Schnitte mit verdünnter Chromsäure

ist keineswegs conditio sine qua non des Gelingens, trägt aber wesentlich dazu bei. Zur Untersuchung bringt man die Schnitte in mit Salzsäure angesäuertem Glyzerin auf den Objektträger.

790. Diese Methode, für welche man die Schnitte auch vermittelst des Gefriermikrotoms entnehmen kann (P. Rothe), führt unter Umständen auch zur Darstellung der Sternzellen Kupffers.

791. Neuere Methode von Kupffer (99) für **Sternzellen.** Ein Teil Goldchlorid und ein Teil Formol (= 0,4 Formaldehyd, Formol muß frisch bereitet sein) wurden in 10 000 Teilen destillierten Wassers gelöst. Mit dem Doppelmesser hergestellte Leberschnitte wurden zunächst auf 10 Minuten in eine ganz schwache Chromsäurelösung 1 : 10 000 gesetzt, darauf in jene Löung übertragen; in flachen Glasgefäßen, in welchen die Lösung etwa 3 cm hoch steht, wurden die Leberschnitte in einfacher Schicht ausgebreitet. Nach 36 Stunden oder später tritt in der Regel die Färbung ein, wobei die Sternzellen schwarz erscheinen. Die Schnitte können durch Alkohol und Toluol in Kanadabalsam überführt werden, sie dunkeln aber in der Regel nach. Fetthaltige Lebern dürfen nicht verwendet werden, da die Fetttropfen sich ebenfalls schwärzen. Diese Methode ist viel sicherer als die in § 789 angegebene.

792. Spritzt man einem Kaninchen Tusche, etwa $^1/_5$ g, fein verrieben in physiologischer Kochsalzlösung 10 ccm in die Blutbahn (Vena jugularis) ein und tötet das Tier nach 24—36 Stunden, fixiert die Leber in beliebiger Weise und schneidet, so findet man die Sternzellen mit Tusche gefüllt. Ähnliches erzielt man, wenn man Tusche in den Lymphsack des Frosches oder die Bauchhöhle einer Maus einspritzt. Zinnober statt Tusche zu nehmen, ist weniger zu empfehlen (v. Kupffer, 99).

793. Cohn injiziert einem Kaninchen in die Randvene des Ohres 1 g Argentum colloidale Credé, gelöst in 5 ccm Wasser. Schon nach 3 Minuten findet man schwarze Körnchen des ausgefällten Silbers in vielen Sternzellen. Man töte das Tier durch Verbluten erst nach 1 Stunde, fixiere die Leber in Alkohol und schneide. Färbung zulässig.

Ribbert injiziert, um Sternzellen darzustellen, möglichst konzentrierte Lithionkarminlösung, § 462, von der er einem ausgewachsenen Kaninchen 27 ccm auf 9 Tage verteilt.

794. Heilmeyer hat gezeigt, daß unter Umständen das intralobuläre Bindegewebe mit der Palschen Methode

färbbar ist. Seine Methode gelang öfter als die von Kupffer.

795. Darstellung des intralobulären Bindegewebes nach Oppel, 90 und 91: In Alkohol fixierte große Stücke der Leber werden auf 24 Stunden in eine 5%ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum gebracht. Man spüle sie dann mit einer sehr dünnen Höllensteinlösung (einige Tropfen einer $^3/_4$%igen Lösung auf 30 ccm destillierten Wassers) ab und lege sie in eine $^3/_4$%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach 24 Stunden haben sich in der Leber intralobuläre Fasernetze (**Gitterfasern**) gefärbt, welche die Blutkapillaren umspinnen. Die Stücke kommen einige Stunden in destilliertes Wasser, dann in Alkohol. Paraffin-Durchtränkung ist zulässig, doch schneidet man besser mit freier Hand. Auch verhältnismäßig dicke Schnitte (30—40 μ) sind brauchbar für das Studium der Gitterfasern. — Stets sind nur die Randpartien des Stückes gefärbt, und das ist eben der Fehler der Methode. Die Schnitte sind parallel zu einer Seite nahe der Oberfläche des Stückes zu entnehmen.

796. Am sichersten und reinsten lassen sich die Gitterfasern (das intralobuläre Bindegewebe) nach der Methode von Bielschowsky-Maresch, § 458, darstellen.

Siehe auch die Mallsche Methode, § 716; vgl. § 475.

797. Um das **Glykogen** der Leber zu studieren, verfährt Ranvier folgendermaßen: Es wird ein Hund 2 Tage lang mit gekochten Kartoffeln gefüttert, die durch Zusatz von Fett schmackhafter gemacht werden, danach getötet, und kleine Leberstücke mit einem Gefriermikrotom in Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Jodserum (siehe § 15 gebracht und darin untersucht. Man findet zunächst das Glykogen in der Leberzelle in diffuser Form; es ballt sich aber später zu unregelmäßigen Massen, welche noch später auch an der Oberfläche der Leberzellen auftreten. Solche Schnitte, welche die Glykogenjodreaktion (weinrote Farbe desselben) zeigen, kann man mit Osmiumdämpfen räuchern und so für 24 bis 48 Stunden fixieren. Später verschwindet die weinrote Farbe gänzlich.

798. Das mit Alkohol fixierte Glykogen bindet die Gerbsäure; diese Verbindung ist in Wasser löslich, kann aber durch Behandlung mit Kaliumbichromat unlöslich gemacht werden. Davon ausgehend hat A. Fischer, 05,

folgende Methode angegeben. Fixierung in Alkohol. Die in Paraffin eingebetteten Objekte werden geschnitten, mit Eiweiß auf dem Objektträger befestigt, mit Toluol und Alkohol behandelt und aus diesem direkt in 10%ige Tanninlösung auf 10—15 Minuten übertragen; man spült mit einer 1%igen Kaliumbichromatlösung ganz kurze Zeit ab und überträgt nun die Schnitte auf 10—15 Minuten in eine 10%ige Kaliumbichromatlösung. Nun ist Glykogen unlöslich geworden, und man kann es mit wässerigen Lösungen behandeln. Färbung mit basischen Farben, z. B. Safranin, gelöst in Anilinwasser. S. auch Diessen.

799. Zur Darstellung der **Nerven** in der Leber empfiehlt Berkley (93) folgende Methode: $^1/_2$—1 mm breite Streifen des frischen Organs kommen in zur Hälfte mit heißem Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser auf 15—30 Minuten und dann in eine Lösung von Kalium bichromicum und 2%iger Osmiumsäure (100 : 16) im Dunkeln bei 25° C auf 48 Stunden. (Diese Lösung muß man vor dem Gebrauche einige Tage in der Sonne stehen lassen). Die Objekte werden dann mit einer $^1/_4$—$^3/_4$%igen wässerigen Silbernitratlösung 5—6 Tage behandelt, gewaschen, geschnitten (rasche Zelloidindurchtränkung nicht ausgeschlossen). Bergamottöl, Xylol-Kanadabalsam.

13. Kapitel. **Atmungsorgane, Thyreoidea und Thymus.**

800. Kehlkopf und Trachea kleinerer Tiere, die nicht alt sein dürfen, werden am besten in der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert, aber auch andere Fixierungsmittel, wie z. B. Sublimat, Zenkersche Flüssigkeit und auch Alkohol, geben ganz befriedigende Bilder.

Die Knorpel des Kehlkopfes, auch der Trachea älterer Tiere, sind häufig verkalkt, daher schwer im ganzen zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach dem Fixieren sorgfältig ab, durchtränke und schneide diese allein. Oder aber man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit (weichem) Paraffin und schneide dann mit einem Messer die harten Knorpelpartien ab; letzteres Verfahren gibt bessere Resultate. Größere Kehlköpfe schneide man (wenn im ganzen zu schneiden) in Zelloidin.

Die mit der Flemmingschen Flüssigkeit (siehe § 53) vorbereiteten Stücke werden in Schnitte zerlegt und mit Safranin tingiert. Außer der Kerntinktion des Safranins erhält man bräunlich tingierte Becherzellen und rotbraun

tingierte elastische Netze des Stratum proprium der Mukosa und der Submukosa.

Nach Sublimat, Chromsäure und Alkohol kann man mit Erfolg die Stückfärbung mit Borax-Karmin anwenden.

801. Beobachtung des Epithels von der Fläche, s. § 390, gibt Aufschluß über die Verteilung des Flimmer- und Pflasterepithels.

802. Faßt man speziell das Studium der **Drüsen** ins Auge, so fixiere man sorgfältig, z. B. mit Flemmingscher Lösung, isoliere die Schleimhaut durch Abschneiden mit dem Rasiermesser, durchtränke, schneide und färbe für spezielle Zwecke.

803. Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch mazeriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden (siehe § 369 ff.).

804. Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** muß mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft pathologische Verhältnisse antrifft.

805. Um den Zusammenhang kleinster Bronchien mit den Alveolargängen und dieser mit den Trichtern zu sehen, fertige man Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Lunge an.

806. Um das sonst so schwer zu sehende **respiratorische Epithel** sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, die Lunge mit Silbernitratlösung zu injizieren. Man verfahre dabei folgendermaßen (F. E. Schulze, 71 und Köl-liker, 81): Man spritze eine 0,05%ige Silbernitratlösung von der Trachea oder einem großen Bronchus aus in die Lunge ein, die man, ohne sie zu verletzen, dem Tiere eben entnommen hat. Ist so die Lunge mäßig gefüllt, so binde man die Trachea an der Spitze der Kanüle ab, um das Zurückfließen der injizierten Flüssigkeit zu verhindern, und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$%ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80% aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnitten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweiß ist zu vermeiden, wegen des späteren Nachdunkelns desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silber-

linien, sowohl der Alveolenepithelien, als der Alveolargänge. Die Kernfärbung ist zulässig (Hämatoxylin oder Safranin).

807. Kopsch 06 gibt folgendes an: Ein kleines Tier wird geköpft, dessen Lunge herausgenommen und mit einer 1/4 %igen Silbernitratlösung von der Trachea aus injiziert und in einer Lösung derselben Konzentration im Dunkeln gehalten und dann in eine dünne Formollösung, 3—4 ccm Formol auf 100 ccm Wasser, übertragen. In diese diffundiert die noch nicht verbrauchte Silberlösung und wird von Formol reduziert; Formol wird trüb und nach einer Stunde erneuert. In der erneuerten Lösung bleibt die Lunge 12—24 Stunden liegen. Man schneidet mit dem Gefriermikrotom, — die Lunge erlangt im Formol eine für das Gefrierschneiden günstige Konsistenz, läßt die Schnitte im Wasser im Lichte stehen, um eine endgültige Reduktion des Silberalbuminats zu erzielen. Die Schnitte werden entwässert usw.

808. Elastische Fasern der Lungenalveolen untersucht man an frischen, mit Kalilauge behandelten Präparaten (siehe § 460); aber auch mit 1/3 Alkohol mazerierte Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können, liefern gute Bilder.

809. An Schnitten färbe man die elastischen Fasern (Kehlkopf, Trachea, Bronchen, Lunge) mit der Orzeïnmethode (siehe § 463) und dem Weigertschen Verfahren (siehe § 461).

810. Orsós injiziert die Lunge mit alkoholischer Formalinlösung: 8 %ige Formollösung 70 Teile und 30 Teile 96 %igen Alkohols. Nach 2—3 tägiger Fixierung wird die Lunge in 96 %igen Alkohol, welcher oft gewechselt wird, gebracht, dann nicht allzudicke Scheiben der Lunge 3 Stunden in Weigertscher Elastinfärbung gefärbt. Nachdem 1/2—1 Stunde mit salzsaurem Alkohol und nachher 1/2—1 Stunde mit 1/2 %iger Chromsäurelösung differenziert wurde, werden die Stücke nach Waschung und Entwässerung in Paraffin eingebettet und geschnitten.

811. Die **Blutgefäße der Lunge** lassen sich verhältnismäßig leicht mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (s. § 703 ff.) injizieren, oder man kann bei Amphibien z. B. die mit Blut gefüllten Blutgefäße in vivo beobachten (siehe Blutkreislauf § 443 ff.).

812. Man fixiere kleine Stückchen der **Schilddrüse** in der Flemmingschen Lösung (siehe § 53) 1—3 Stunden (sic), wasche 24 Stunden in oft zu wechselndem destilliertem Wasser aus und behandle mit allmählich verstärktem Alkohol (70%, 90%, 96%). Man färbe entweder im Stück mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung (s. § 263) oder, und dies mit besserem Erfolg, mit Ehrlich-Biondischer Lösung (siehe § 309) nach Fixierung in Sublimat. (Langendorff, 89).

813. Die **Kolloidsubstanz** sieht homogen aus, trübt sich mit Alkohol und Chromsäure nicht, wird durch Essigsäure nicht geronnen, im Gegensatz zu Schleim, und färbt sich mit vielen Farbstoffen, z. B. mit sauren Anilinfarben.

Kolloid quillt in Essigsäure auf (Waschen in physiologischer Kochsalzlösung bringt die Masse auf das frühere Volumen zurück), weniger in $^1/_5$%iger Salzsäure.

33%ige Kalilauge oder starke Natronlauge läßt Kolloid weniger aufquellen; setzt man aber Wasser zu, so zerfällt Kolloid eher, als sich Bindegewebe löst. 10%ige Kalilauge löst nach längerer Zeit Kolloid. Salpetersäure macht Kolloid etwas schrumpfen. Sublimatfixierungen bringen Kolloid zum Schrumpfen, was Osmiumsäuregemisch nicht tut.

814. Die Technik der **Thymus** ausgewachsener Tiere schließt sich eng an die der Lymphdrüsen an. Als Material sind besonders fötale Thymusdrüsen zu beachten. Die Hassalschen Körperchen sind beim Meerschweinchen in jedem Alter besonders deutlich zu sehen (Renaut, 99).

14. Kapitel. Niere und Harnwege. Nebenniere.

815. Über die **Leichenveränderungen** in der **Nierensubstanz** der Ratte haben Policard und Garnier wertvolle Beobachtungen veröffentlicht. Die Malpighischen Körperchen verändern sich erst nach 2—4 Stunden nach dem Tode, indem die Epithelien des Glomerulus und der Ampulle trüb werden. Schon nach 20—30 Minuten werden die Heidenhainschen Basalstäbchen grobgranuliert, das Protoplasma der Zellen der gewundenen Kanälchen wird basophil und ihr Kern acidophil. Der Bürstenbesatz, entgegen der Behauptung vieler Autoren, ist nur wenig empfindlich, er schwindet sehr spät, und 4 Stunden nach dem Tode ist er deutlicher als zuvor zu sehen. Von der 15. Minute an erscheinen im Lumen der Kanälchen hyaline Kugeln, zuerst in den gewundenen Kanälchen, später

distal. Henlesche Schleifen verändern sich weniger rasch usw. Die gewundenen Kanäle wären demnach am empfindlichsten, und man kann sie nur mit Osmiumsäuredämpfen tadellos fixieren.

816. Beliebig fixierte Nieren, mit Alkohol z. B., werden in einer passenden Richtung mikrotomiert oder mit der Hand geschnitten und geben instruktive Bilder über die Verbreitung der **Mark-** und **Rindensubstanz.**

817. Will man die **Blutgefäße** der **Niere** spezieller ansehen, so untersucht man injizierte und fixierte Nieren. Die Injektion an kleineren Tieren wird von der Aorta descendens aus vollzogen, bei größeren Tieren von der Arteria renalis aus. Die mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 703 ff.) injizierten Nieren werden mit Spiritus fixiert und geschnitten; nicht gefärbte Schnitte, die in Kanadabalsam aufgehellt sind, zeigen nur die Gefäßbahnen. Färbt man aber solche Schnitte, so sieht man neben den Gefäßbahnen die nicht besonders gut konservierten Harnkanälchen.

818. Um die **Harnkanälchen** zu isolieren, gebraucht man die reine Salzsäure von 1,12 spezifischem Gewicht und läßt diese 15—20 Stunden (unter Umständen genügen auch 4—6 Stunden) auf kleine Stücke (etwa 0,5 cm Seite) einer nicht zu frischen Niere (etwa 24 Stunden nach dem Tode) einwirken. Nach der angegebenen Frist werden die Stücke mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in verdünntem Glyzerin untersucht (Schweigger-Seidel, 65). Das Glyzerin muß zu den isolierten Stücken sehr vorsichtig zugesetzt werden, damit dieselben durch Strömungen nicht verwickelt, resp. gebrochen werden.

819. Mit gutem Erfolge haben wir für die Isolation der Harnkanälchen kleine frische Stücke der Niere in eine starke, bis auf 40 % verdünnte rauchende Salpetersäure auf 2 (bis 4) Stunden eingelegt. Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen, und man kann unter Umständen durch bloßes Schütteln in einem Uhrschälchen sehr lange Abschnitte isolieren.

Ein sehr gutes Objekt für diese Methode scheint die Niere der Schildkröte (aber auch die der Maus) zu sein, denn wir haben vor Jahren in zahlreichen Fällen im Zusammenhange Ampulle, gewundenes Stück, Henlesche Schleife, Schaltstück, Sammelröhre bis zum Konfluieren mit der nächsten Sammelröhre gesehen. Sind die Präparate gut ausgewaschen, so

empfiehlt sich das Nachfärben mit saurem Fuchsin, von welchem man einige Tropfen dem Wasser zusetzt, in welchem die mazerierten Stücke gewaschen werden. Untersucht und eingeschlossen werden die gezupften Präparate in mit Wasser verdünntem Glyzerin, welches vorsichtig an Stelle des Wassers substituiert wird.

820. Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, die Zellen aber unkenntlich macht (zerstört), ist die Anwendung der konzentrierten Kalilauge. Kleinere Stücke einer frischen Niere werden auf 1—$1^1/_2$ Stunden in konzentrierte Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

821. In analoger Weise, wie in der Leber die Gallenkapillaren, kann man in der Niere mit Indigokarmin die Harnkanälchen zur Anschauung bringen (Chrzonszczewsky, siehe § 782).

822. Will man Näheres über die **Epithelien** der Harnkanälchen erfahren, so fixiere man ganz kleine Stücke der Niere in Sublimat oder Flemmingscher Flüssigkeit. Die Schnitte führe man so, daß man entweder die Kanälchen längs im Schnitte oder aber bestimmte Abschnitte senkrecht auf die Längsachse derselben trifft.

Sehr günstig für die Untersuchung des Epithels der Bowmanschen Kapsel und dessen Übergang in das gewundene Kanälchen ist nach Benda (87a) die Mäuseniere.

823. Um **Epithelien isoliert** zu bekommen, empfiehlt sich die Mazerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (siehe § 369) oder nach R. Heidenhain (80) in 5%iger Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen der Zellen bestimmter Abschnitte der Harnkanälchen zum Vorschein kommen sollen.

824. Imprägnationen mit Silbernitrat (mit der Methode von Golgi oder von Cox, siehe § 656 und 653) liefern wichtige Aufschlüsse über die gegenseitigen Beziehungen der Zellen der Harnkanälchen, Böhm und v. Davidoff, 95.

825. Zur Darstellung der Strichelung der Epithelien empfiehlt Sauer die Carnoysche oder die Perényische Flüssigkeit, 3—5 Stunden. Übertragen in absoluten Alkohol, sehr vorsichtiges Übertragen in Paraffin mit Einschaltung von Zwischenflüssigkeiten (siehe § 112). — Färben: 1 bis

2 Stunden in 1,5%iger Eisenalaunlösung, Spülung mit Wasser, Hämatoxylin (0,5%iges Hämatoxylin 100 + 5 ccm einer 1%igen Kalium hypermanganicum-Lösung) 3 Stunden, Eisenalaunlösung, Wasser, Alkohol 90%ig, Rubin S. (2 bis 3 Tropfen auf 15 ccm 90%igen Alkohols) wenige Minuten (Membranae propriae und Bürstenbesätze werden intensiv rot).

826. Nach Bielschowsky-Maresch § 458 läßt sich in ausgezeichneter Weise das **Bindegewebe** der **Niere** darstellen.

827. Am **Ureter** und der **Harnblase** wird man namentlich auf das Studium des Epithels einige Zeit verwenden, indem man die erwähnten Organe im kollabierten und dann im gedehnten Zustande untersucht. Letzterer wird dadurch hervorgerufen, daß man den Ureter, resp. die Harnblase, prall mit derselben Flüssigkeit injiziert, in welcher man sie (nach Unterbindung) zu fixieren beabsichtigt. In letzterem Falle erscheint das Epithel außerordentlich niedrig, in einer bestimmten Weise gedehnt, aber kontinuierlich. (Eine ähnliche Dehnung der Epithelien kann man in allen epithelialen Röhren beobachten). London (81) und Kann (89).

828. Nebenniere. Chromsäure, chromsaure Salze und deren Mischungen, angewendet in der gewöhnlichen Weise, färben die Marksubstanz der Nebenniere eigentümlich braun. Dieses Verhalten findet auch bei den Tieren statt, bei welchen Mark und Rinde getrennt liegen (Eberth, 71/72, vgl. H. Rabl, 91). Es ist schwer, die Nebenniere tadellos zu fixieren; man nehme frisches Material und sehr kleine Stücke.

829. Die mit Formol, Sublimat oder Carnoyscher Lösung fixierten Nebennieren zeigen an mit Hämatoxylin (z. B. Böhmerschem) gefärbten Präparaten das Protoplasma der Zellen der Marksubstanz blau gefärbt. (Srdinko).

830. Das in den Zellen der Rinde der Nebenniere vorhandene Fett ist nicht mit dem gewöhnlichen Körperfett identisch, es löst sich nach Osmierung in Chloroform und Bergamottöl (H. Rabl, 91).

15. Kapitel. **Geschlechtsorgane.**

831. Für das Studium der **Keimdrüsen,** sofern es vom zellulären Standpunkte geschieht, gelten die Methoden, welche im 1. Kapitel auseinandergesetzt worden sind.

832. Für das Studium der **Ovarien** wähle man, je nachdem man reifere oder sich entwickelnde Follikel und Eier untersuchen will, das Material. Dabei diene als leitend die Berücksichtigung der Brunstzeit, des Eierlegens usw.

833. Will man die Entwicklung der Follikel und Eier studieren, so wähle man embryonales Material oder junge Tiere.

834. Die unreifen, sehr kleinen Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Amphibien, auch Reptilien und Vögel kann man dazu benutzen, um sich daraus frische Präparate anzufertigen. Man braucht nur die unreifen, ganz hellen (gewöhnlich dorsal liegenden) Partien des Eierstockes aufzusuchen, mit einer Schere herauszuschneiden, auf einem Objektträger in einer indifferenten Flüssigkeit auszubreiten und mit schwacher Vergrößerung zu untersuchen.

Will man bei stärkerer Vergrößerung untersuchen, so muß man die kleineren Eier isolieren und vorsichtig mit einem mit Schutzleisten oder Wachsfüßchen versehenen Deckglase bedecken.

835. An größeren Eiern, welche man in Sublimat oder Sublimat-Eisessig fixiert hat, mit Boraxkarmin überfärbt und ein paar Tage vorsichtig mit einer $^1/_2$%igen Salzsäure in 70%igem Alkohol ausgezogen hat, bis Chromatin allein exakt gefärbt erscheint, kann man durch Zupfen die relativ großen **Keimbläschen** unter der Lupe isolieren und in Kanadabalsam einschließen. Rückert 92.

836. Aber es gelingt auch, die viel kleineren **Eier** der Säugetiere zu isolieren. Man führe zu diesem Zwecke mit einem scharfen Rasiermesser einen Schnitt durch ein frisches Ovarium. Die Oberfläche wird mit wenig indifferenter Flüssigkeit benetzt und mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst geschabt. Es werden infolge des sanften Druckes zahlreiche unreife Follikel die Eier in die indifferente Flüssigkeit entleeren, und wenn man diese auf einen Objektträger überführt und mit einer schwachen Vergrößerung untersucht, so findet man das Gewünschte in zahlreichen Exemplaren.

Einzelne davon werden ins Auge gefaßt, die übrigen samt der Flüssigkeit auf einen anderen Objektträger übertragen, um später untersucht zu werden. Es wird ein Deckgläschen mit Vorsicht (eventuell mit Stützleistchen) darauf gelegt, und es ist nun möglich, mit einer stärkeren Vergrößerung zu untersuchen.

837. Die Fixierung der so isolierten Eier auf dem Objektträger, z. B. mit Osmiumsäure durch Räuchern oder durch Zugießen derselben unter das Deckgläschen, ist möglich, man muß aber bei der Überführung der so fixierten Eier in Glyzerin oder Alkohol außerordentlich vorsichtig sein, indem man mit der schwächsten Konzentration derselben anfängt und ganz allmählich steigert, um schließlich zu der gewünschten zu gelangen.

838. Die **reifen Eier,** welche bei unseren einheimischen Fischen, Amphibien und Reptilien verhältnismäßig voluminös und im großen und ganzen undurchsichtig sind, kann man nicht ohne weiteres bei durchfallendem Lichte untersuchen; wohl sieht man manches bei auffallendem, wobei entweder Lupe oder die schwächsten Objektive des zusammengesetzten Mikroskops in Betracht kommen, aber nur das Zerlegen der Keimscheiben in Schnitte gestattet eine nähere Einsicht.

839. Weit günstiger in dieser Beziehung sind die reifen Eier der **Säuger.** Ovarien der ausgewachsenen Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit liefern solches Material.

Die größten **reifen Follikel,** die sich sehr gespannt anfühlen, werden mit einer scharfen Nadel so angestochen, daß der in einem Strahl austretende, das Ei mit der Zona radiata enthaltende Liquor folliculi nicht in die Höhe spritzt (O. Schultze, 97), sondern in ein Uhrschälchen fließt. Der Inhalt wird mit Vorsicht unter einer Lupe untersucht und das Ei mit der Zona radiata meist gefunden; es wird vorsichtig mit einer Pipette auf einen Objektträger übertragen, ein Deckglas mit Stützleistchen (diese sind hier unbedingt nötig) aufgelegt und untersucht.

Wendet man keine Stützleistchen an, so drückt das Deckgläschen auf das immerhin ziemlich voluminöse Gebilde, und es zeigt alsbald die Zona pellucida einen in der Sehebene liegenden strichförmigen Riß (künstliche Mikropyle!), was durch die Druckrichtung bedingt ist. Dieser vergrößert sich allmählich unter steigendem Drucke.

840. Auch solche Eier können wie die unreifen (siehe § 837) fixiert werden; aber hier erfordert es noch mehr Geduld und Übung, um einigermaßen brauchbare Präparate zu erzielen.

841. Um Übersichtsbilder durch Eierstöcke zu erlangen, führen die im allgemeinen Teile angegebenen Me-

thoden mehr oder weniger zum Ziele; vor allem bei sehr kleinen Ovarien die Flemmingsche Lösung, welche neben anderen Vorzügen den hat, daß sie die komplizierten Strukturen des Eiprotoplasmas, sowie auch die Zona pellucida, vorzüglich erhält. Safranin als Farbe ist hier wohl geeignet.

Sublimat und Zenkersche Flüssigkeit geben z. B. ebenfalls instruktive Bilder; man färbt am besten mit Karmin oder Hämatoxylin. Bei diesem letzteren liefert die Kombination mit Eosin lehrreiche Bilder.

842. Man wählt am zweckmäßigsten zur Orientierung Eierstöcke kleiner Tiere, wie Mäuse, Ratten, Fledermäuse etc., da dieselben sich viel besser fixieren lassen und leichter zu haben sind. Große Ovarien, Kuh, Mensch, lassen sich nicht gleichmäßig in oben angeführter Flüssigkeit durchfixieren. Man fixiere deshalb in diesem Falle entweder kleinere Stücke wie oben, oder greife zu chromsauren Salzen (siehe § 35 ff).

843. Das **Keimepithel,** das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dargestellt werden (siehe § 378). Das Ovarium wird mit Alkohol nachbehandelt, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinien des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im ganzen einschließen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung beobachten.

844. Tuben werden wie Darm behandelt. Da aber die Tube sehr stark und vielfach gewunden ist, so ist es, falls es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Fixieren zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krnmmen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, einer großen Übung bedarf. Auch Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit in die Tube nach Abschneiden der Mesosalpinx vor dem Übertragen in die Fixierungsflüssigkeit ist anzuraten. Man sieht dabei, daß sehr viele Falten sich ausgleichen.

845. Der **Uterus** wird ebenfalls nach der Methode, die im Abschnitt Darm angegeben worden ist, behandelt. Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe, lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor sie in die-

selbe eingelegt werden, ebenfalls ausspritzen, wobei die Tube, wenn dies erwünscht ist, mitbehandelt werden kann. Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche.

846. Die gelegentlich vorkommenden Plattenepitheleinseln studiere man wie Zilliacus nach § 390.

847. Für **Nerven** des Uterus, vgl. Lebhardt, welcher mit Methylenblau gearbeitet hat.

848. Die Scheide behandle man wie Oesophagus oder Haut.

849. Das Bindegewebe der weiblichen Geschlechtsorgane ist von K. Hörmann mit der Methode von Bielschowky-Maresch § 458 eingehend untersucht worden.

850. Die **Spermatozoen**, Spermien, und deren Bewegungen kann man frisch untersuchen. Eine aus den Samenwegen oder einem frisch gemachten Schnitt durch einen Nebenhoden entnommene geringe Menge Samenflüssigkeit wird mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und direkt eventuell auf dem heizbaren Objekttisch beobachtet.

Spermatozoen von Salamandra atra und maculosa lassen mit Leichtigkeit schon bei mittlerer Vergrößerung alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spieß, Kopf, Mittelstück, Schwanz, undulierende Membran, Randfaden etc.) erkennen. Man vergesse nicht, Wasser zuzusetzen; dieses sistiert bald die Bewegungen. Schwache Säuren und Alkalien wirken ähnlich wie bei der Flimmerbewegung. Für Anfertigung von Dauerpräparaten verfährt Ewald (97) wie für Blut und isolierte Epithelien (siehe § 375.)

851. In den Spermatozoen färbt sich der Kopf mit Kernfärbemitteln und das Verbindungsstück mit dem Reagens auf Centrosomen, der Metallsalz-Hämatoxylinfärbung schwarz. Bei dieser Färbung kommt es nicht auf die Anwendung des Ferriammonsulfates an, sie gelingt auch mit anderen Eisensalzen, sowohl mit Ferri-, als mit Ferroverbindungen, sowohl mit Sulfaten, als mit Chloriden, ja auch mit anderen Metallsalzen, z. B. Kupfersalzen (R. Fick, 93a.) vgl. § 837.

852. An **mazerierten Spermatozoen,** z. B. mit sehr verdünnter Chromsäure, aber auch in einer längere Zeit in der feuchten Kammer sich selbst überlassenen Samenflüssigkeit, sieht man nicht selten die fibrilläre Struktur

des Rand- und Achsenfadens, namentlich bei Zusatz von einer sehr verdünnten Gentianaviolettlösung in Wasser. (Ballowitz, E. 88.) Auch können die Spermatozoen als Trockenpräparate (wie Blut) aufgehoben und nachträglich (z. B. mit Safranin) gefärbt werden. Die Osmiumsäure, deren Gemische und Osmiumsäuredämpfe konservieren die Spermatozoen gut. Manche Strukturen kommen hier besser als bei Trockenpräparaten zum Vorschein.

583. Die Spermien schwimmen immer gegen den Strom. Bringt man Sperma unter das Deckglas und erzeugt eine Strömung mit einem Stück Fließpapier, welches man in die unmittelbare Nähe des Deckglases bringt, so kann man das Phänomen beobachten — **Rheotaxis.** Roth.

854. Hoden. Für die Untersuchung der Spermatogenese ist die Wahl des Materials von Belang (Jahreszeit, Alter, Größe der Elemente etc., bei verschiedenen Tieren). — Man muß im Auge behalten, daß, wenn die Hoden vor der Fixierung zerstückelt werden, die Samenkanälchen durch Hervorquellen disloziert werden. Hermann, 93).

855. Orientierungspräparate beschafft man sich dadurch, daß man kleinere Hoden in gewöhnlicher Weise etwa mit Sublimat oder Pikrinsäure fixiert. Für die feineren histogenetischen Vorgänge ist die Flemmingsche Lösung in angegebener Weise (siehe § 53) anzuwenden; nachträgliche Färbung auf dem Objektträger mit Safranin.

856. Mit sehr gutem Erfolge wendet man die von **Hermann** (93) empfohlene **Flüssigkeit** an:

für Säugetiere	1%iges	Platinchlorid	75 ccm
	2%ige	Osmiumsäure	20 »
		Eisessig	5 »
für Salamander	1%iges	Platinchlorid	75 »
	2%ige	Osmiumsäure	10 »
		Eisessig	5 »

Man lasse die Flüssigkeit auf nicht zu große Stücke 24 Stunden lang, besser länger (wie bei Flemmingscher Lösung) einwirken, wasche mit Wasser aus und entwässere mit Alkohol von allmählich steigender Konzentration 50, 70, 90%.

So fixierte, auf dem Objektträger aufgeklebte Paraffinschnitte können entweder mit Safranin-Anilinwasser allein nach der Formel:

1 g Safranin
10 ccm abs. Alkohol
90 ccm Anilinwasser

24—48 Stunden lang gefärbt und dann mit Wasser abgespült, mit saurem Alkohol und Alkohol absol. (siehe § 276) behandelt oder nach einer solchen Färbung mit der **Gramschen** Lösung nachgefärbt werden, d. h. auf 3—5 Minuten in Gentianaviolettlösung (gesättigte alkoholische Lösung 5 auf 100 Anilinwasser [Anilinöl 4 wird mit 100 ccm dest. Wassers geschüttelt und filtriert]) gefärbt, in Alkohol flüchtig abgespült und mit Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 1—3 Stunden behandelt werden, bis die Schnitte vollkommen schwarz werden; nun werden sie in Alkohol übertragen, bis sie violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Die Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium erscheinen blauviolett, die echten Nukleolen rot tingiert. Im Aster- und Dyasterstadium dagegen färbt sich das Chromatin rot usw. (siehe Hermann, 93).

Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun tingiert. Die Köpfe, die Mittelstücke, Schwänze, Spiralfäden etc. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben rotblau, violettblau etc.

Hermann (91) legt kleine Objekte (z. B. Proteushoden) in: Hämatoxylin 1 g, absoluten Alkohol 70, Wasser 30 auf 12—18 Stunden im Dunkeln. Auswaschen in 70%igem Alkohol im Dunkeln. Paraffinschnitte, Ausziehen mit hellrosa Kaliumpermanganat, bis sie ockerfarbig werden, weitere Entfärbung mit 5—10fach verdünntem Palschem Gemisch (siehe § 676); Safranin 3—5 Minuten. Besonders geeignet zur Hervorhebung der achromatischen Elemente, Zentralkörper etc.

857. Für das Studium der **Spermatogenese** empfiehlt Benda (87b) folgendes Verfahren: In Flemmingscher Lösung konservierte Hodenstücke werden geschnitten, aufgeklebt und 24 Stunden im Thermostat auf 38—40° C in einer sehr starken Lösung von Kupferoxyd gelassen. Sie werden sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und kommen in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung, bis sie intensiv schwarz werden, was etwa 5 Minuten in Anspruch nimmt. Sie kommen dann in eine $^1/_3$%ige wässerige Salzsäurelösung, bis die Schnitte gelb werden, und aus dieser in

die Kupferlösung zurück, worin sie so lange bleiben, bis sie violettblau werden. Dann werden sie mit destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol behandelt und in Kanadabalsam übergeführt.

16. Kapitel. **Embryologische Technik.**

858. Es bietet sich bei uns Gelegenheit, **Embryonen,** resp. **abgelegte befruchtete Eier,** mit Leichtigkeit zu erlangen, daher lassen wir einige diesbezügliche Notizen und Erfahrungen hierüber folgen.

859. Im Frühjahr und im Sommer hat man Gelegenheit, zahlreiche Eier und Kokons verschiedener **wirbelloser Tiere,** namentlich Schnecken, in den stehenden Gewässern, Bächen, die nicht rasch fließen, usw. zu sammeln, was, wenn die Eier nicht zu weit entwickelt sind, allgemein interessantes Beobachtungsmaterial abgibt. Man kann beispielsweise das Austreten der Richtungskörperchen an der Tellerschnecke und weiter die Furchung frisch am lebenden Ei beobachten. Anleitung hierzu gibt Häcker (99).

860. In dem im Darm der Pferde (namentlich im Winter) vorkommenden Spulwurm **Ascaris** megalocephala hat man ein verhältnismäßig leicht zu beschaffendes Objekt für das eingehendste Studium der Befruchtung sowohl, als der Teilungsvorgänge an sich furchenden Eiern. In den verschiedenen Regionen der Eiröhren desselben Tieres findet man zahlreich die verschiedensten Stadien: Eindringen des Zoosperms, Bildung des Spermakerns, Bildung der Richtungskörper etc. bis zur Furchung. Die Ascaris der Pferde kommt in zwei Varietäten vor: die eine hat vier und die andere, selten vorkommende, gar nur zwei Chromosomen in den somatischen Zellen (Boveri).

861. Man verfährt nach Häcker folgendermaßen:

Am besten werden die Eiröhren der Würmer unmittelbar nach der Herausnahme der letzteren aus dem Darm des eben geschlachteten Pferdes in die Konservierungsflüssigkeit gebracht. Ist ein Transport über kürzere Strecken notwendig, so empfiehlt es sich, die Würmer innerhalb des durch zwei Ligaturen geschlossenen Darmes zu behalten (Herla) oder sie in warmem Pferdemist zu verpacken.

Boveri (87) verwandte behufs Darstellung der achromatischen Strukturen Pikrin-Essigsäure (konzentrierte wässerige

Lösung von Pikrinsäure wird mit zwei Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung dann 1% Eisessig zugesetzt).

Nach 24stündiger Behandlung mit dieser Flüssigkeit und nach sehr sorgfältigem Auswaschen mit 70%igem Alkohol kommen die Eiröhren auf 24 Stunden in Grenachers alkoholischen Boraxkarmin, 24 Stunden in 70%igen Alkohol mit 1 Prozent Salzsäure, dann in reinen Alkohol. Bringt man dann die Eiröhren aus dem Alkohol in eine Mischung von 1 Teil Glyzerin auf 3 Teile Alkohol abs. und läßt diese so lange stehen, bis der Alkohol verdunstet ist, so erhält man die Eier ohne alle Schrumpfung.

862. Kostanecki-Siedleckische **Schnittmethode.** Kostanecki und Siedlecki haben u. a. mit Sublimat (Sublimat heiß in physiologischer Kochsalzlösung bis zur Sättigung gekocht und abgekühlt), Sublimat + 3 Prozent Salpetersäure und mit einer Lösung aus gleichen Volumteilen Sublimat (wässerige, konzentrierte Lösung), Eisessig und Alkohol abs. gearbeitet. Nach 24 Stunden Übertragung in schwachen Alkohol (+ etwas Jodtinktur), dann je 24 Stunden in Alkohol von 50, 70, 90, 95, 100%. Überführung der vollen Eileiter in Chloroform + Alkohol abs. (1 : 2), dann Chloroform + Alkohol abs. (2 : 1), dann reines Chloroform. Die weitere Behandlung erfordert wegen der Härte und Dicke der Eihüllen besondere Vorsicht. Es werden in dem Chloroform bei Zimmertemperatur kleine Stückchen Paraffin (Schmelzpunkt 48° C) aufgelöst, bis eine kalt konzentrierte Lösung von Chloroform-Paraffin entsteht. Dasselbe Verfahren wird bei 30° C (obere Fläche des Thermostaten) bis zur Sättigung wiederholt. »Dann ließen wir die Temperatur auf 40° C allmählich steigen und übertrugen die Objekte in Chloroform-Paraffin zu gleichen Teilen, nach einigen Stunden bei steigender Temperatur in Paraffin-Chloroform (3 : 1) und endlich in Paraffin von 48° C, dann in ein Gemenge von zwei Paraffinsorten (Schmelzpunkt 48° C und 52° C), worauf sie eingebettet wurden. Hierbei muß man beachten, daß die Eier nicht länger als höchstens 8 Stunden der Temperatur über 35° C ausgesetzt werden, sonst treten starke Schrumpfungen ein. Die 5—10 μ dicken Schnitte werden mit Wasser aufgeklebt, mit Bordeaux vorgefärbt und mit Heidenhainschem Hämatoxylin-Eisenlack gefärbt.«

863. Neunaugen, Petromyzon fluviatilis und Petromyzon Planeri, das bis jetzt wenig gebrauchte Material,

lassen leicht künstliche Befruchtung an reifen Eiern zu, welche man durch Streichen zum Porus abdominalis auspreßt und mit reifem Sperma besamt. Sie laichen im Herbst, resp. im Frühjahr und sind aus den Fischhandlungen in Memel, Danzig, Elbing, Stettin, Kiel und Bremen zu beziehen, Kopsch. Im Frühjahr findet man solche bei Bamberg, Troisdorf, Niederlahnstein, Harburg, Wittenberge, Magdeburg, Rathenow, Cressen und Schwedt a. O., Bromberg. Lubosch hat sein Material aus Jennowitz im Riesengebirge, Mergensheim in Württemberg, Haynau in Schlesien, Tharand, Taubenbischoffsheim, bei Königsbronn und Itzelheim in Württemberg und Lockwitz bei Dresden, Petromyzon Planeri kommt in Mühlengraben vor (aus Lubosch). An eben befruchteten Petromyzoneiern beobachtet man frisch mit genügender Schärfe die Befruchtungsvorgänge. Die Eier stellen sich von selbst mit dem animalen Pol in die Sehebene, und man sieht das Eindringen der Spermien begleitet von verschiedenen Protoplasmabewegungen von Seite des Eies. Der ganze Vorgang dauert nur wenige Minuten, kann aber beliebig oft wiederholt werden. Kupffer und Benecke.

864. Fischeier sind gelegentlich das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man frisch an der Oberfläche den Keim bei günstiger Beleuchtung sehen und studieren.

Die Laichzeit einiger Fische notieren wir nach dem bayerischen Königskalender (83) und nach H. Stork: Äsche: März, April; Amaul: April, Mai; Barbe: Mai, Juni; Barsch: März, April, Mai; Bartgrundel (Schmerle): März, April: Elritze: Mai, Juni; Felchen: November, Dezember; Forelle: Oktober, November, Dezember; Gareisl (Karausche): Juni; Gründling: Mai, Juni; Hecht: April, Mai; Huchen: April; Karpfen: Mai, Juni; Kaulbarsch: April, Mai: Lachs: September, Oktober, November; (Fluß-)Neunauge: April; Quappe: Januar; Renke: November, Dezember; Rotauge; April, Mai; Saibling: Juni, Oktober, November; Schleie: Mai, Juni; Waller (Wels): Juni, Juli.

865. Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte **künstliche Befruchtung** der Eier vornehmen. Zur Zeit, wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daran erkennt, daß beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsprodukte, Eier, resp. Sperma (Milch), ohne

weiteres abgegeben werden, verfahre man folgendermaßen: In eine reine Schüssel werden die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt gebracht. Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt. Es wird wenig Milch in derselben Weise gewonnen und auf die Eier möglichst gleichmäßig verteilt, dann das Ganze ohne jeglichen Zusatz (trockene, sog. russische Methode) umgerührt, etwa mit der Fahne einer Gänsefeder, dann wird Wasser zugesetzt, und zwar so viel, daß die Eier reichlich damit bedeckt werden. Es wird wiederum einige Minuten gewartet (bis 10 Minuten), das mit Milch getrübte, weißlich aussehende Wasser abgegossen und durch frisches so oft ersetzt, bis die Trübung nicht mehr wahrzunehmen ist. Die Besamung ist vollzogen, und man kann die Eier in reinem fließendem, z. B. Wasserleitungswasser, zur Weiterentwicklung bringen. Für diesen Zweck gibt es ganz spezielle Apparate.

866. Die künstlich befruchteten **Forelleneier** kann man, unmittelbar nach der Besamung beginnend, öfter (etwa alle 5 Minuten) nach § 870 konservieren (die Eihaut darf man nicht entfernen) bis zum Auftreten der ersten Furche etwa. — An solchem Material, welches man schneidet und passend färbt, kann man die Befruchtung — eingedrungenes Zoosperm, Bildung der Richtungskörper, des Eikernes, des Furchungskernes etc. — bequem studieren.

Wir heben hier die Vorzüge dieses Objektes hervor: Leichtigkeit der Beschaffung kontinuierlicher Serie, relative Leichtigkeit der Konservierung, Klarheit der Bilder. Wir empfehlen dieses Objekt für Demonstrationen und Studium.

H. Blanc bedient sich folgender Methode: Forelleneier, welche nach der russischen Methode befruchtet sind, werden in Pikrinschwefelsäure und Eisessig fixiert (600 Vol. Wasser, 2 Vol. Schwefelsäure, 100 Vol. konzentrierte Pikrinsäure und 8 Vol. Eisessig). Die Eier können in dieser Flüssigkeit einige Stunden bleiben, ein längeres Verbleiben schadet keineswegs. Die Eier werden sodann in einer 10%igen Essigsäure geöffnet, welche den Dotter löst und die Extraktion des Keimes mit Hilfe einer Lanzette und des Pinsels erlaubt. Die Keimscheiben werden mit 80 bis 90%igem, dann absolutem Alkohol behandelt, mit Boraxkarmin gefärbt und in toto in Balsam oder Glyzerin eingeschlossen. Bei jungen Stadien muß man den animalen

Pol des Eies abschneiden, man erhält dann die Keimscheibe und die Schalenhaut.

867. Die leichteste Methode für rasche Orientierung über die Keime und Embryonen ist das Fixieren der frischen Eier in einer $^1/_3$%igen Chromsäure 12—24 Stunden. Man übertrage alsdann die Eier in fließendes Wasser; nach einigen Stunden hebt sich die Eischale etwas ab, was allerdings eine geringe Kompression des Eies bedingt. Ist die Eihaut abgehoben, so kann man den Teil des Eies, welcher die Keimscheibe enthält, mit einem scharfen Rasiermesser abschneiden, indem man das Ei mit der linken Hand festhält. Die so abgetragenen Segmente werden noch weiter mit Wasser gewaschen, bis die gelbe Farbe die Embryonen, resp. die Keime, vollständig verläßt. (Der Dotter bleibt immer etwas gefärbt.)

868. Für die Untersuchung von **jungen Forellen-Keimscheiben** empfiehlt H. Virchow (Kopsch, 98) eine Vorbehandlung der ganzen Eier mit Chromsäure 2, destilliertem Wasser 900, Eisessig 100 etwa 10 Minuten lang; für Embryonen mit kleinerwerdendem Dotterloch eine etwas kürzere Zeit bis zu 5 Minuten. Die Eier werden in eine 2‰ige wässerige Chromsäure gebracht und dann einzeln, wenn möglich sofort, weiter behandelt: Man überträgt das Ei in eine physiologische Kochsalzlösung, eröffnet dasselbe schonend, entfernt die Eihaut und bläst den nicht geronnenen Dotter von der Keimscheibe mit einem mit der erwähnten Kochsalzlösung gefüllten, fein ausgezogenen Röhrchen weg. So vom Dotter gereinigte Keimscheiben fixiert man nun vollends, z. B. mit Sublimat (2 Std.), Flemmingschem Gemisch (sorgfältiges Auswaschen!) usw. Derart behandelte Keimscheiben bieten gute Oberflächenansichten und lassen sich gut in Paraffin schneiden.

869. Boeke J. fixiert mit Sublimat-Eisessig oder mit Zenkerscher Flüssigkeit kurze Zeit und härtet in 10%iger Formollösung nach; nach einigen Stunden überträgt er die Eier in 30%igen Alkohol, um sie weiter mit 40, 50% usw. zu behandeln. Der Dotter der Salmoniden wird sehr hart, der des Gobius capito z. B. dagegen läßt sich in Paraffin gut schneiden.

870. Gute Resultate erzielt man (sehr junge Forellenkeime) mit Sublimat-Eisessig. 80 ccm konz. wässerige Sublimatlösung und 20 ccm Eisessig läßt man $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde

lang einwirken. Die so fixierten Eier werden in 70%igen Spiritus übertragen, und nach 1 Stunde werden, wie dies in § 867 bereits angegeben worden ist, die Keime mit dem Rasiermesser abgeschnitten. Die weitere Behandlung wie bei Sublimat (siehe § 63), nur darf man zum Aufbewahren keinen stärkeren Alkohol wie 85%igen anwenden. Noch besser ist folgende Methode: Die Eier kommen in eine stärkere Sublimat-Eisessiglösung (20%ig) und schon nach weniger wie einer halben Minute trübt sich der Keim — ist also abgetötet. Alsdann überträgt man die Eier in eine schwächere (5%ige) Sublimat-Eisessiglösung, resp. gießt die nötige Menge reiner Sublimatlösung hinzu; nach $^3/_4$ Stunde etwa kommen die Eier in 70%igen Spiritus (mit ein paar Tropfen Jodtinktur), und wiederum nach ca. $^3/_4$ Stunde wird die den Keim enthaltende Kugelkalotte sorgsam mit einem Rasiermesser mit Eihaut und möglichst wenig Dotter abgetragen. Die Keime dürfen nicht mit stärkerem Spiritus als 80%igem in Kontakt kommen. In dieser Weise konserviertes Material läßt sich mit gewisser Übung (auch ohne Anwendung der kombinierten Zelloidin-Paraffinmethode) nach Durchtränkung mit Paraffin allein mit der Eihaut in lückenlose Serien zerlegen (A. Böhm, 91).

871. Bei Vorhandensein von schlecht schneidbarem hartem Dotter schliesse man in Paraffin durch Azeton: 70—80%igen Alkohol, Azeton, Xylol usw ein. Man vermeide mit andern Worten den absoluten Alkohol.

872. Es muß als allgemeine Regel gelten, daß das gesamte **Fischmaterial** möglichst **rasch bearbeitet** werde; denn werden die Eier längere Zeit in Spiritus aufgehoben, so wird, wenn derselbe auch schwach gewählt wird, die Dottersubstanz doch so hart und brüchig, daß man sie gar nicht mehr, wenigstens nicht mit gewöhnlicher Paraffindurchtränkung, schneiden kann. Mit reiner Zelloidindurchtränkung kann man keine für embryologische Zwecke genügend feinen Schnitte erzielen. Die kombinierte Zelloidin-Paraffinmethode führt hier manchmal noch zum Ziele. Liegen aber solche Eier ein paar Jahre in Spiritus, so lassen sich zwar die Keime und Embryonen bei großer Übung mit Starnadeln und Skalpellspitzen absprengen und weiterschneiden, aber der Dotter nicht mehr.

Man kann solche Objekte aber in gewöhnlicher Weise durch Chloroform in Paraffin einbetten und in diesem beliebig lange Zeit aufbewahren.

Diese Methode kann selbstverständlich auch für andere Objekte mit Vorteil angewandt werden und empfiehlt sich als ganz besonders zweckmäßig für Amphibieneier.

873. Amphibien. Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren. Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

Die **Paarungszeit** ist bei uns: Triton alpestris März bis Mai; T. cristatus April bis Juni; T. taeniatus Mai; Rana esculenta Mai und Anfang Juni; R. temporaria März; Pelobates fuscus Anfang April; Bombinator igneus Mai und Juni; Alytes obstetricans zweimal im Jahre (Frühjahr und Herbst); Bufo vulgaris und variabilis April; B. calamita im Frühjahr, zuletzt unter den Kröten (vgl. darüber auch A. Franke, 81).

874. Bei verschiedenen Amphibien ist die **künstliche Befruchtung** möglich. Beim Frosch verfährt man folgenderweise: Eier aus dem Eileiter oder der Leibeshöhle kommen trocken in eine Schale und werden mit Samenwasser, d. h. dem Inhalt der Samenbläschen oder zerquetschter Hodenstücke mit wenig Wasser übergossen; nach 5—10 Minuten gießt man das Samenwasser ab und ersetzt durch gewöhnliches, welches öfters zu erneuern ist. Die Eier entwickeln sich dann weiter, nur die die Eier bedeckende Schicht Wasser darf nicht zu hoch sein — höchstens 1 cm.

875. O. Schultze (99) hat durch jahrelange Versuche an Froscheiern eine Fixierungsmethode herausgefunden, welche ihn nun befriedigt. Nach der **Entfernung der Gallerthülle** bis auf die die Dotterhaut umgebende innerste Gallertschicht kommen die Eier für 5 Minuten in eine 5%ige (20mal verdünnte) wässerige Formollösung von 75—80° C. Sie sterben momentan ab, die Hüllen heben sich vom Ei ab, und dieses kann mit Leichtigkeit mit Nadeln herausgeholt werden. Die Eier nehmen eine elastische, lederähnliche Konsistenz an bei ausgezeichnet erhaltenen Oberflächenzeichnungen und lassen sich ideal schneiden; sie lassen sich monatelang in der 5%igen Formollösung in den schützenden Hüllen aufheben, ohne dabei ihre guten Eigenschaften zu verlieren.

O. Schultze (99) empfiehlt für die Durchtränkung mit Paraffin folgenden Weg: Geschälte Eier kommen aus der Formollösung in 70%igen, dann 95%igen Alkohol, dann in Bergamottöl je 2 Stunden mindestens, darauf auf 10 Minuten in einmal gewechseltes Paraffin und werden dann eingebettet. Ob diese Methode für andere dotterreiche Eier sich ebensogut eignet, hat O. Schultze nicht erprobt.

876. O. Hertwig (83) behandelt die Eier mit auf ca. 90° gewärmtem Wasser etwa 5 Minuten. Dann kühlt er die Eier rasch ab, indem er zu dem warmen Wasser kaltes hinzugießt, und schält nun die Eier also: Er faßt die Schleimhülle mit einer Pinzette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt, bei einer gewissen Übung, den Eiraum zu öffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei heraus. Das so auspräparierte Ei wird nun mit Spiritus von allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt.

877. Um die Schleimhülle zu entfernen, verfährt Whitman (88) folgendermaßen:

Eine 10%ige Lösung des Natriumhypochlorits wird mit 5—6 Teilen Wasser vermengt. Die durch Hitze oder auf andere Art abgetöteten Eier kommen in diese Lösung so lange, bis sie aus der Schleimhülle herausfallen.

878. Die mit Chrom-Osmium-Essigsäure beispielsweise fixierten Eier können auch, nachdem sie gut mit Wasser gewaschen worden sind, in eine aufs 3—4fache verdünnte Lösung von aqua Javelli, welche etwa 8% Natriumhypochlorit enthält, kommen. In dieser verbleiben sie $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, während welcher Zeit das Gefäß einigemal geschüttelt wird; die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und allmählich in stärkeren Spiritus übergeführt (Blochmann, 89).

Auch Eier von Tritonen, die einzeln an Grashalmen etc. abgelegt werden, lassen sich mit gutem Erfolg in derselben Weise fixieren und weiter behandeln.

Zur **Fixierung** geschälter **Amphibieneier** ist die Sublimatchromsäure (siehe § 72) geeignet.

879. R. Fick (93b) verfährt folgendermaßen: Die Eier werden mit den Hüllen in Chromessigsäure von Flemming (25 ccm 1%ige Chromsäure + 75 ccm Wasser

+ 0,1 Eisessig) 24 Stunden fixiert, geschält, 24 Stunden in fließendem Wasser belassen, entwässert (60%iger, dann 80%iger Spiritus je 24 Stunden), mit alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden gefärbt, mit salzsaurem, 70%igem Alkohol ausgezogen; 90%iger Spiritus, Bergamottöl (2 bis 4 Stunden, nicht länger), Paraffin 50° Schmelzpunkt ½—1 Stunde (nicht länger, sonst werden die Eier hart und brüchig), schneiden 10—15 μ dick (vgl. O. Schultze, 87).

880. Barfurth (93) empfiehlt Einlegen in Wasser von 80° C. für einige Minuten oder in Chrom-Essigsäure von derselben Temperatur. Mit letzterer Methode fixierte Eier wasche man 24 Stunden mit Wasser, schüttle, wobei die Gallerthülle weggeht. Oder man behandle mit Eau de Javelle der Apotheke, welches man auf das dreifache verdünnt (im Brütofen rascher als bei Zimmertemperatur), wobei bei vorsichtiger Bewegung des Glases die Hülle bald ganz entfernt wird. Vorsicht nötig; Materialverlust! — Weitere Behandlung wie nach Fick-Schultze (siehe § 879). Statt Chromessigsäure kann man Zenkersche Flüssigkeit anwenden. — Objekte in den Hüllen werden am besten konserviert (nach Abtöten im Wasser von 80° C) in: Alkohol 125, Glyzerin 25, Wasser 350; geeignet für Zeichnen und Demonstrieren.

881. Voluminöse Amphibieneier (Salamandra mac. z. B.) färbe man vor dem Schneiden, schneide in weichem Paraffin (45—50° C Schmelzpunkt) und befestige auf dem Objektträger entweder mit folgender, von Born empfohlener Masse: 2 Vol. Kollodium, 2 Vol. Äther, 3 Vol. Ol. Ricini (Strassersche Klebemasse), mit welcher der Objektträger mittels eines Glasstabes in dünner Schicht überzogen wird, oder befestige mit Eiweißwasser (siehe § 185), wobei sich die Falten ausgleichen. Ist ein Objektträger voll, so überstreicht man die ganze, die Schnitte tragende Fläche mit einem weichen Pinsel mit der Kollodium-Rizinusölmischung. Jetzt kommen die Objektträger entweder direkt in Xylol, absoluter Alkohol muß vermieden werden, daher Stückfärbung (R. Semon), oder nach Eiweißbefestigung durch Spiritus etc. in Kanadabalsam.

882. Carnoy und **Lebrun** heben mit Recht hervor, daß auf übliche Weise fixierte Amphibieneier sich schlecht und solche von größerem Volumen gar nicht schneiden lassen, und zwar wegen ihrer Brüchigkeit. Carnoy und

Lebrun empfehlen nun, zunächst für Ovarialeier und ganze Ovarien, folgende **Methode.** Junge Eier werden $^1/_4$, ältere $^3/_4$—1 Stunde in van Gieson schem Sublimatgemisch (Salpetersäure von sp. g. 1,456—15 ccm, Eisessig 4 ccm, Sublimat 20 g, Alkohol von 60% 100 ccm, dest. Wasser 880 ccm) belassen, 1 Stunde mit Wasser gewaschen und durch allmählich verstärkte Alkohole in 80%igen übergeführt. Nun werden die Objekte, um in Paraffin eingeschlossen zu werden, kurze Zeit, etwa $^1/_4$ Stunde, mit 95%igem, dann 5 Minuten mit absolutem Alkohol behandelt; aus diesem kommen sie in Alkohol-Chloroform zu gleichen Volumteilen. In letzterer Flüssigkeit senken sich die Objekte zu Boden; man ersetzt dann Alkohol-Chloroform durch reines Chloroform und nach 3—15 Minuten fügt man Paraffin von 52° Schmelzpunkt, bis das Volumen verdoppelt wird, hinzu und stellt das Gefäß in einen auf 37° gewärmten Thermostat. Hier verbleiben die Objekte $2^1/_2$—3 Stunden und werden nun in reines flüssiges Paraffin von 52° Schmelzpunkt bei möglichst niederer Temperatur auf 5 Minuten gelegt und in demselben Paraffin eingebettet. Die Schneidbarkeit, auch der diffizilsten Objekte, ist eine auffallend gute.

883. Peter 04 **färbt Dotterelemente** bei Amphibien mit Eisenalauncochenille. Man koche 10 g gepulverte Cochenille mit 250 ccm destilliertem Wasser und dampfe das Dekokt unter stetem Umrühren auf etwa 50 ccm ein. Darauf wird destilliertes Wasser zu 150 ccm aufgefüllt, filtriert und auf je 40 ccm des Filtrats 3 Tropfen konzentrierter Salzsäure zugefügt. Der entstehende feine Niederschlag hat sich in 1—2 Tagen gesenkt und die klare orangerote Flüssigkeit ist gebrauchsfertig. Sie kommt unverdünnt zur Anwendung.

Die mit Eiweißglyzerin aufgeklebten Schnitte werden von Paraffin befreit, kommen durch die Alkohole, und aus destilliertem Wasser in die Farblösung, in welcher sie bei Brütofentemperatur 18—24 Stunden verbleiben. (Abspülen der Schnitte mit destilliertem Wasser kann wegfallen) . Übergießen mit einer 1%igen Eisenalaunlösung in destilliertem Wasser, die, wenn sie schwarz wird, gewechselt werden soll. Dauer der Einwirkung $^1/_2$—2 Minuten. Abspülen in destilliertem Wasser. Alkohol 50, 70, 90, 96%, absol., Xylol. Balsam.

884. Vgl. auch die Bemerkung in § 871.

885. Reptilien. Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen an, denen man nach geeigneter Tötung die Eier entnehmen kann. Da die Tiere (außer den viviparen) die Eier in ziemlich frühem Stadium ablegen, findet man meistens nur junge Stadien vor.

	Paarung	Gebär-, resp. Legezeit
Lacerta agilis . . .	Mai bis Juni	
» muralis . .	April	Juli
» vivipara .	Ende April	Mitte Juli
Anguis fragilis . .	Mai	August (sogar Oktob.)
Pelias berus . . .	Anfang April bis Mai	Ende August bis Anfang September
Coronella austriaca	Mitte April	Ende August bis Anfang September
Tropidonotus natrix	Mitte Mai	Mitte Juli bis Ende August

(Vgl. darüber auch A. Franke, 81.) Selbstverständlich ist hierbei der Standort, von welchem die Tiere bezogen werden, zu berücksichtigen.

886. Man erzielt die besten Resultate, wenn man frisch unter physiologischer Kochsalzlösung die **Schalenhaut entfernt,** was man nicht schwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pinzette das Ei so faßt, daß sich eine niedrige Falte bildet; diese wird mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. (Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches in der Regel mit dem Platzen der Dotterhaut, resp. Ausfließen des Dotters, [das Ei geht dabei zugrunde] endet). In der Fortsetzung des Schnittes hebe man abermals eine Falte auf und schneide weiter ringsum, bis das Ei aus der Schalenhaut fällt.

887. Ist es gelungen, das Ei, ohne es zu verletzen, von den Eihüllen zu befreien, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen, und als solche eignet sich Pikrin-Schwefelsäure 5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe § 78 und 870) 1—$1^1/_2$ Stunden mit nachträglicher Behandlung mit reinem Sublimat oder Sublimat-Chromsäure (siehe § 72) 24 Stunden. Nach dieser Frist werden die Eier in Wasser übertragen und die **Area embryonalis,** resp. vasculosa, mit einer scharfen, spitzen

Schere **umschnitten** und dann mittels eines Hornlöffels in Alkohol übertragen (nach Sublimat: Jodzusatz!)

888. In späteren Stadien der Entwickelung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läßt sich der Keim allein nach der Entfernung der Dotterhaut, welche Operation in späteren Stadien keine Schwierigkeit mehr zu machen pflegt, abheben.

889. Bei den **jüngeren Stadien** entferne man den fixierten Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter.

890. Eine (für den Anfänger namentlich) recht bequeme Methode, die übrigens nicht einmal sehr schlechte Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in Pikrin-Essigsäure (konzentrierte wässerige Pikrinsäure wird mit zwei Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1% Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet]) auf 24 Stunden.

Hierauf überträgt man die Eier in destilliertes Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pinzette und Schere, was mit großer Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und dem Herausschneiden des Embryos, resp. Keimes, ist wie die oben angegebene.

891. Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte **Eidechsen-** und **Schlangeneier;** diese letzteren enthalten stets spätere Entwicklungsstadien, resistentere Embryonen, die schon spiralig gewunden sein können, an denen man Pulsationen des Herzens usw. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Embryonen darinnen brauchen aber nicht tot zu sein. In feuchtem Moos oder ähnlichem nehmen sie die ursprüngliche Spannung wieder an.

892. Junge Reptilieneier (Befruchtung, Furchung, erstere Stadien sind an den dünnen, leicht mit zwei Pinzetten abziehbaren Schalen kenntlich), die man bisweilen im Eileiter findet, fixiere man, wie oben angegeben, nach dem Schälen und übertrage sodann die ganzen Eier in 70%igen Spiritus. Nach 24 Stunden bringe man die Eier in 80%igen Spiritus und schneide nach 2—4 Stunden die Keimscheiben vom Dotter mit dem Rasiermesser ab, indem man die Eier vorsichtig mit den Fingern faßt. Die Keim-

scheiben können dann weiter behandelt, mit Paraffin durchtränkt und geschnitten werden. Stück- oder Schnittfärbung.

893. Eine Methode, welche sehr gute (erprobt an **Blindschleichen** und Eidechsen) Resultate gibt, namentlich in bezug auf die Ausnützung des Materials, ist folgende: 2—3 Stunden Sublimat-Eisessig (5 % von letzterem), dann übertragen in eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser 8—12—24 Stunden, es wird in Wasser geschält und ganze Eier oder abgelöste Embryonen, in 70%igen Spiritus übertragen, dann in gewöhnlicher Weise weiterbehandelt. Materialverlust ist bei einiger Übung sehr gering, das Färben mit Boraxkarmin, Hämalaun im Stück gelingt stets, die Konservierung ist tadellos. — Es ist ausdrücklich hervorzuheben, daß sich sehr junge Stadien auf diese Weise ebenfalls behandeln lassen. Oppel.

894. Das bequemste Material zur Untersuchung von **Vogeleiern** sind die **Hühnereier,** von denen nur die ersten Furchungsstadien sehr schwer zu bekommen sind. Die Furchung des Hühnereies geht parallel mit der Bildung des Eiweißes und der Schalenhäute (resp. Schalen) im unteren Abschnitt der Tube und im sog. Uterus usw. vor sich. Das Ei wird im Stadium des durchfurchten Keimes abgelegt, wenn sich eben die Keimblätter zu bilden anfangen (einzelne Vögel, z. B. Kanarienvögel, legen die Eier in viel jüngeren Stadien ab, Rauber, 76). Die weitere Entwickelung geht außerhalb des Mutterleibes bei Luftzutritt bei einer höheren (37—40° C) Temperatur (Bruttemperatur) vor sich und ist nicht schwer zu untersuchen. Das Brüten kann entweder der Henne überlassen werden, oder in einem gewärmten Raume vor sich gehen. Ein beliebiger Thermostat (siehe § 113), auf die geforderte Temperatur geheizt, kann diesem speziellen Zwecke dienen und in einen Brutofen umgewandelt werden; man kann so in bequemer Weise alle möglichen Entwickelungsstadien erlangen. Man darf nur nicht unterlassen, auf folgende Punkte zu achten: Die Eier müssen mindestens alle 24 Stunden um die lange Achse etwas (z. B. um 90°) gedreht werden, die Luft im Brutraume darf nicht trocken sein, und der Brutraum muß von Zeit zu Zeit ventiliert werden. Die Brütedauer beträgt bei der Taube 17 bis 19 Tage, bei Huhn und Ente 21 Tage, Gans 29 Tage, Pfau 31 Tage.

895. Novak gibt für Bearbeitung von jungen Hühnerkeimscheiben mit unterliegendem Dotter folgende **Methode** an: Nach Entfernung des Eiweißes unter auf 37° erwärmter 0,6%iger Kochsalzlösung zieht man die Flüssigkeit mit einer Pipette ab und substituiert sie durch die Fixierungsflüssigkeit: 0,5% Chromsäure 30 ccm, konzentrierte wässerige Sublimatlösung 30 ccm, Eisessig 3 ccm, destilliertes Wasser 37 ccm. Nach 24 Stunden wechselt man die Flüssigkeit, und nach 48 Stunden ersetzt man sie durch 55% Alkohol. 70%, 85% Alkohol, letzterer mit Zusatz von Jodjodkaliumlösung folgen nach; in letzterem Spiritus zieht man die Dotterhaut ab, was leicht zu geschehen pflegt. — Weitere Behandlung wie sonst. —

896. Am leichtesten sind die Keimscheiben vom Ende des zweiten Brütetages an zu präparieren. Zunächst wird die Eischale am stumpfen Pol, wo sich der Luftraum befindet, aufgeschlagen, die Schalenhaut mit einer Pinzette eröffnet und das Eiweiß zum Ausfließen gebracht, während man mit einer starken Schere die Schale entfernt. Man hat dabei auf die Chalazen zu achten und dieselben erst an der einen Seite und dann an der anderen Seite abzuschneiden, indem man sie mit dem Eiweiß durch passendes Neigen und Drehen des Eies zum Ausfließen bringt. Hat man die Schale so weit umschnitten, bis man dicht an der Dotterhaut angelangt ist, wobei das meiste Eiweiß bereits entfernt wurde, so gieße man den Dotter sehr vorsichtig entweder in eine indifferente Flüssigkeit, z. B. eine auf die Bruttemperatur erwärmte $^1/_2$%ige Kochsalzlösung, oder direkt in die fixierende Flüssigkeit. Ist das erstere der Fall, so ziehe man vorsichtig mit der Pinzette die Reste des Eiweißes in der Region der Keimscheibe weg, man beobachte dabei frisch, was zu sehen ist, Pulsation des Herzens etc. und umschneide mit einer scharfen Schere den Keim um den Sinus terminalis. Die Dotterhaut, falls sie nicht von selbst abgegangen ist, wird durch sanftes Anfassen derselben mit Pinzette entfernt und der Keim auf einem Spatel oder einem Uhrschälchen aufgefangen, die Kochsalzlösung möglichst abgegossen und die Fixierungsflüssigkeit tropfenweise auf den Embryo selbst gebracht. Als Fixierungsflüssigkeit kann man bei Vogelembryonen Salpetersäure, Pikrinschwefelsäure usw. für Orientierungspräparate, oder Flemmingsche, Zenkersche Lösung für Studienzwecke anwenden.

897. Man kann aber auch folgendermaßen verfahren: Der Dotter mit möglichst wenig **Eiweiß** wird in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. In dieser koagulieren die Reste des Eiweißes allmählich und werden mit Pinzette, resp. Pinsel, schichtenweise **entfernt,** bis die Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen bloßliegt. Das Ei wird in einer Fixierungsflüssigkeit, je nach derselben, längere oder kürzere Zeit belassen, z. B. in einer 3—5 %igen Salpetersäure 2–3 Stunden, Pikrinschwefelsäure 3–4 Stunden, Sublimat-Eisessig 2 Stunden und dann Sublimatlösung allein 24 Stunden usw. Nach dieser Zeit werden die Keime ganz oder in den älteren Stadien um den Sinus terminalis umschnitten und weiterbehandelt, die Dotterhaut durch Schütteln des Keimes in einer Uhrschale, resp. durch sanftes Ziehen mit der Pinzette, entfernt; aus der Salpeter- und Pikrinschwefelsäure in 70 %igen Spiritus usw. nach den bekannten Regeln übertragen.

Verfolgt man spezielle Zwecke, so steht der Anwendung anderer Fixierungsflüssigkeiten nichts im Wege.

898. Da sich die Dotterhaut und der Dotter am leichtesten in Salpetersäure entfernen lassen, so ist es zweckmäßig, die Behandlung mit Salpetersäure, etwa 10 %, 1/4 Stunde, in welcher man die Dotterhaut und den Dotter vom Embryo entfernt, mit anderen Fixierungsmitteln, welche man darauf einwirken läßt (z. B. Sublimat-Eisessig, Tellyesniczkysche oder Zenkersche Flüssigkeit) zu kombinieren.

899. Die Keime können gefärbt und geschnitten, resp. geschnitten, aufgeklebt und gefärbt werden.

900. Solche Keime, die man vorher gefärbt hat, kann man aber auch als **Übersichtspräparate** ganz einschließen, indem man die gefärbten Keimscheiben vorher entwässert und durch Xylol in Kanadabalsam überführt. Man unterlasse nie, der Dicke des Keimes entsprechend, dicke Schutzleisten anzuwenden; ohne diese Vorsicht werden die Keimscheiben stark platt gedrückt und die Organe verschoben.

901. Ganz instruktive Bilder erhält man, wenn man zu der Salpetersäure von der eben angegebenen Konzentration 5—10 ccm einer 1 %igen wässerigen Silbernitratlösung auf 100 ccm hinzusetzt. Es erscheinen dabei in den oberflächlich gelagerten Schichten sehr reine Zellgrenzen.

902. Die angegebenen Verfahren werden bei größeren Embryonen etwas modifiziert werden müssen, und ebenso bei ganz jungen Stadien.

Bei diesen letzteren ist die Anwendung des Sublimats nicht zu umgehen. Möglichst vom Eiweiß befreite Dotter kommen in eine Sublimat-Eisessiglösung auf ca. 2 Stunden, die Keimscheibe wird rasch mit dem darunter liegenden Dotter umschnitten und sehr vorsichtig mit einem Hornlöffel abgehoben. Die weitere Behandlung siehe Sublimat-Eisessig. Stückfärbung mit Boraxkarmin ist in diesem Falle sehr zu empfehlen.

903. Auch andere Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind infolge der besonderen Zähigkeit des Eiweißes sehr schwer zu behandeln, z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

904. Säugetiere. Die Embryonen, die man zum systematischen Studium am leichtesten bekommt, sind die des Kaninchens und des Meerschweinchens.

905. Die **Tragzeit** beträgt bei Maus und Meerschwein 3, Kaninchen und Ratte 5, Igel 7, Katze 7—8, Hund 8—9, Schwein 17—18, Schaf und Ziege 20—21, Reh 25, Kuh 40, Pferd 48 Wochen.

906. Am meisten Übung und Sorgfalt in der Fixierung erfordern die noch **nicht angehefteten Eier.** Die trächtigen Uteri werden unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit sorgfältig aufgeschnitten, mit Nadeln (man nehme eine mit Wachs ausgegossene Schale) aufgesteckt, und die Oberfläche des Epithels wird, falls die zu erwartenden Stadien jung, resp. die Eier klein sind, auf das sorgfältigste mit einer Lupe untersucht. Sind die Eier aufgefunden worden, so kann man die indifferente Flüssigkeit mit einer Pipette aufsaugen und mit einer fixierenden vertauschen, oder aber die Eichen selbst können mit einem Löffelchen aufgefangen und in die fixierende Flüssigkeit übertragen werden.

907. Als Fixierungsflüssigkeit benütze man bei **jungen Stadien** (Primitivstreifen, wenige Urwirbel) Pikrinschwefelsäure, oder Zenkersche Flüssigkeit, worauf die Eier, wie andere Objekte, weiterbehandelt werden. Da die Keimblase aber gewöhnlich schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere sofort

nach der Trübung in der Fixierungsflüssigkeit zu umschneiden.

908. Auch schwache Osmiumsäure, etwa $^1/_3$%ige, oder Osmiumsäure-Gemische (siehe § 53) führen hier zum Ziel. **Spätere Stadien,** wenn der Embryo deutlich mit unbewaffnetem Auge sichtbar ist, die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse der Lage und Eihäute des Embryos vorausgesetzt, sind leichter zu behandeln; man gewöhne sich nur, stets unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit zu präparieren.

909. O. Schultze (97) findet es praktisch, die Eröffnung der Fruchtkapseln nicht sofort nach dem Tode vorzunehmen, sondern die durch Querschnitte des Uterus isolierten Kapseln zuerst für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Flemmingsche Lösung, starke Mischung, einzulegen. Hierdurch wird die Fruchtkapsel schnell oberflächlich gehärtet und kollabiert nicht mehr beim Aufschneiden, so daß es leichter ist, die Embryonalanlage von den Eihäuten zu lösen und in die Fixierungsflüssigkeit zu übertragen.

910. Kleinere Uteri trächtiger Tiere, Mäuse, Fledermäuse etc. können samt dem Inhalt am besten mit Carnoyscher Flüssigkeit (siehe § 85), aber auch Sublimat nach den bekannten Regeln fixiert werden. Die den Embryonen entsprechenden Anschwellungen des Uterus werden in toto durchtränkt und in Schnitte zerlegt, am zweckmäßigsten senkrecht auf die Längsachse des Uterus.

Da die Muscularis des Uterus sehr hart ist, so kann sie vor dem Schneiden nach Durchtränkung mit Paraffin mit einem scharfen Skalpell oder Rasiermesser entfernt werden.

911. Die Tube der Mäuse und namentlich der Fledermäuse ist sehr durchsichtig, und wenn man ein frisches corpus luteum bemerkt und am Uterus nichts Verdächtiges findet, so unterlasse man nicht, die Tubenfältchen auf die angegebene Weise (siehe § 844) auszugleichen und in einer indifferenten Flüssigkeit mit einer mittleren Vergrößerung (etwa 70 mal) sich genau anzusehen. Hat man das Glück gehabt, ein sehr **junges Ei**, etwa im Furchungsstadium, anzutreffen, so trachte man, dasselbe aus der Tube herauszubekommen, und zwar in der Weise, daß man die Tube in Stücke zerschneidet. Schon die Kontraktionen der Muskulatur pressen solche unverletzt heraus; oder man

hilft sich damit, daß man solche Stückchen von einem Ende zum anderen mit dem Deckglase drückt, wobei die Eier ebenfalls frei werden. Solche Eier kann man nach derselben Methode, wie reife Follikeleier, behandeln und dauernd einschließen.

912. Säugetiereier in Furchung gewinnt man nach O. Schultze (97) am leichtesten aus dem Eileiter des Kaninchens im Laufe des zweiten Tages nach der Begattung, indem man den mit einem etwa 5 cm langen Stück des Uterus von letzterem abgetrennten und vorsichtig präparierten Eileiter vom Uterinende her mit 0,6%iger wässeriger Kochsalzlösung (viermal je 1 ccm in vier Schalen von nicht mehr als 4 cm Durchmesser) ausspritzt. Meist findet man beim Durchsuchen mit dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung in den ersten Schalen die Eier.

913. Um **Befruchtungsstadien der Maus** zu erhalten, schneidet Sobotta (95) die Tuben mit den frisch befruchteten Eiern nach Fixierung in der schwächeren Flemmingschen Lösung (24 Stunden oder etwas länger), Auswaschen in Wasser, 60—70%iger, am nächsten Tage 90%iger Alkohol, Schnittfärbung mit Eisenhämatoxylin.

Die Begattung findet beim Meerschwein unmittelbar post partum statt, bei Kaninchen und Maus bisweilen ebenfalls. Muß man aber die Tiere unmittelbar nach dem Wurf töten, so verliert man die Jungen. Sobotta teilt daher mit, daß bei der Maus 21 Tage post partum ein neuer Ovulationstermin liegt.

914. Sehr leicht ist das Behandeln der **Meerschweinchenembryonen** vom 10.—15. Tage. Spannt man die Anschwellung des Uterus, die den Embryo enthält, mit Nadeln, schneidet die Muscularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt alsdann vorsichtig die weiche Dezidualschicht unter der fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt, so tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor und kann ohne weiteres fixiert werden.

Die Eröffnung geschieht am zweckmäßigsten unter der fixierenden Flüssigkeit. Jüngere, kleinere Anschwellungen können samt den Eiern wie die der Mäuse behandelt werden.

915. Ohne besondere Schwierigkeiten kann man sich verschiedene Stadien der **Schafembryonen** aus den Schlacht-

häusern verschaffen, man verwerte sie aber unmittelbar nach dem Schlachten, denn schon nach wenigen Stunden verändern sie sich sehr stark, ja, jüngere Stadien zerfallen, resp. werden unbrauchbar.

916. Um freie kleine Eier, die im frischen Zustande sehr wenig resistent und vollkommen wasserklar sind, leichter aufzufinden, kann man in den Uterus vor dem Eröffnen z. B. Müllersche Flüssigkeit injizieren und erst, nachdem die Eier fixiert und undurchsichtig geworden sind, den Uterus unter derselben Flüssigkeit vorsichtig aufschneiden, aufstecken, die Eier aufsuchen und weiter behandeln (Hensen, 76).

917. Wie schon für Fische angegeben wurde, ist es von der größten Wichtigkeit, falls man nicht die geeignete Zeit dazu hat, Eier, Keimscheiben und Embryonen auch der übrigen Klassen sofort zu untersuchen, diese möglichst bald zu färben und geeignet orientiert mit Paraffin zu durchtränken; tut man es nicht, so läuft man Gefahr, daß die Objekte bis zur Unbrauchbarkeit brüchig werden und sich noch dazu nicht färben lassen.

918. Was die **Färbung embryologischen Materials** anbelangt, so empfehlen sich im allgemeinen Stückfärbungen mit Hämalaun und Karmin (Borax-, Alaun- und Parakarmin) oder nach § 247, 250, 264; weniger geeignet sind hierfür die Anilinfarben. Sehr gute Dienste leistet hier auch die Doppelfärbung nach Hämalaun mit Eosin oder Prikrinsäure, und nach den Karminen mit Pikrinsäure oder Bleu de Lyon, auf Schnitte angewendet; bei Befruchtungsstadien versuche man die Doppelfärbung Karmin (im Stück) -Hämalaun (im Schnitt); bei mit Flemmingscher Lösung fixierten Objekten greife man zu Safranin im Schnitt. — Schon bei Anwendung der Karmine allein erhält man für nicht zu große Embryonen bei Stückfärbung instruktive Präparate.

Weitere Literatur: Ballowitz E. 03, Röthig, Schultze O. 97, Ziegler H. E.

17. Kapitel. Haut, Haare, Nägel und sensible Nervenendigungen in der Haut.

919. Die Haut des Menschen muß in unserem Fall der der anderen Säugetiere für die Untersuchung vorgezogen

werden. Da diese in der Regel erst nach vielen Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommt, so ist es ziemlich gleichwertig, wie sie fixiert wird, Müllersche Flüssigkeit, allmählich stärkerer Alkohol. Kann man frische menschliche Hautstücke, z. B. aus chirurgischen Kliniken von Operationen, erhalten, so fixiere man mit Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure.

Das Schneiden der Haut ist mit vielen Schwierigkeiten verknüpft, und man kann größere Stücke derselben nur in Zelloidin schneiden. — Mittelgroße und kleinere Stücke der Haut lassen sich auch in Paraffin schneiden; hierbei muß aber folgendes berücksichtigt werden: Die Haut muß möglichst rasch mit Paraffin durchtränkt werden, d. h., sie darf weder in Alkohol, noch in Chloroform etc. lange verweilen. Das zum Schneiden verwendete Paraffin muß von der weichsten, das Schneiden eben noch zulassenden Sorte sein (etwa von 50° Schmelzpunkt).

Haut, Haare (auch glatte Muskulatur) werden mit der Zeit in Alkohol steinhart; kann das Material nicht sofort verarbeitet werden, so empfiehlt es sich, dasselbe, in Paraffin eingebettet, aufzuheben, oder dasselbe in Paraffinum liquidum überzuführen (siehe § 93) und darin aufzubewahren.

920. Die Einbettung in Paraffin durch Azeton, unter Vermeidung starken Alkohols, ist zu empfehlen.

921. Um von der **Haut** gute **Paraffinschnitte** zu erhalten, verfährt Barlow (95) folgendermaßen: Die in Osmiumsäure oder in Flemmingscher Lösung fixierten Stücke werden in 96%igem Spiritus aufgehoben, dann auf höchstens 24 Stunden in abs. Alkohol übertragen und durch Chloroform in Paraffin übergeführt. In Chloroform bleiben sie etwa 1 Stunde und ebensolange in Chloroform-Paraffin und auch 1 Stunde in reinem Paraffin. Die Paraffinsorte wird am zweckmäßigsten so zusammengesetzt, daß man $^2/_3$ Paraffin von 42—45° Schmelzpunkt und $^1/_3$ Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt nimmt. Den Thermostat erwärme man auf 50°.

Auf dem Objektträger dürfen die Schnitte nicht mit Eiweiß, sondern am besten mit Wasser festgeklebt werden, da beim Erwärmen oder nach einer Behandlung mit Säuren, ja schon bei der Berührung mit Wasser, die von Paraffin befreiten angeklebten Schnitte sich werfen.

922. Vor dem Schneiden kann man durch Schaben das Stratum corneum, wenn es zulässig ist, entfernen. Das Stratum corneum schneidet sich in Paraffin am allerschlechtesten.

923. Verhornte Epidermiszellen können abgeschabt und nach § 367 untersucht werden.

924. An einer frischen Epidermis, die mit Überosmiumsäure fixiert und geschnitten wurde, differenziert sich das **Stratum corneum** in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere. Über Keratin s. § 596.

925. Das **Stratum lucidum** an in Alkohol, Chromsäure (gut ausgewaschen) und an in Müllerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten färbt sich mit Pikrokarmin gelblich.

926. Im **Stratum granulosum** lassen sich die **Keratohyalinkörner** durch Karmin (resp. Pikrokarmin), Safranin, Hämalaun färben. Von diesen sind zu unterscheiden die **Eleïdintropfen,** welche sich mit zahlreichen fettfärbenden Substanzen (Alkanna, Osmiumsäure, spritlöslichem Nigrosin), dagegen nicht mit Hämatoxylinen tingieren (vgl. Buzzi in Ledermann und Ratkowski, 94).

927. Konzentrierte wässerige Cresylechtviolettlösung färbt Keratohyalinkörner metachromatisch rot. Man färbt 3—4 Minuten, wäscht mit Wasser aus, zieht dann die Farbe mit 95%igem Alkohol solange aus, bis das Bindegewebe die Farbe verloren hat und führt dann rasch durch abs. Alkohol, Xylol in Kanadabalsam über. Fick J.

928. Einige Eigenschaften der Keratohyalinkörner entnehmen wir den Untersuchungen Waldeyers (82):

Sie lassen sich intensiv mit Karmin und Hämatoxylin imbibieren. In 1—5%iger Kalilauge quellen die Körner in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, worin sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert, und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter- und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner längere Zeit unverändert; da die Essigsäure die Epithelien rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese

ähnlich wie Ammoniak vorteilhaft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die größeren Schollen durchsichtiger und läßt sie aufquellen. Überhaupt sind die größeren Körner weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol, Chloroform und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glyzerin-Pepsin-Extrakt und Trypsin lösen sie sich auf.

929. Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii, spinosum, zueinander sind an dünnen Schnitten ohne weiteres wahrzunehmen (vgl. § 386 f.).

930. Um **Zellverbindungen** deutlicher darzustellen, färbt Schuberg die Schnitte mit Dahlia 0,3—1 g, Eisessig 12—20 ccm und Wasser 80—85 ccm einige Minuten lang; es wird mit Wasser gewaschen, in 10%iger Tanninlösung 5 Minuten fixiert, wieder gewaschen, mit 1%iger Brechweinsteinlösung 5 Minuten behandelt; Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

931. Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii, isolieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in einer wässerigen, in der Kälte gesättigten, filtrierten Lösung von Pancreatinum siccum auf 3—4 Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum mazeriert. Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glyzerin-Wasser-Alkohol zu gleichen Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schiefferdecker, 86).

932. Um die **Fibrillen in den Epithelzellen** der Epidermis darzustellen, gebraucht man gewöhnlich die Methode von Herxheimer (modifizierte Fibrinmethode von Gram-Weigert). In Alkohol fixierte Stücke Epidermis werden dünn geschnitten und mit gesättigter Gentianaviolettlösung in Anilinwasser gefärbt, dann 1—2 Minuten mit Lugolscher Lösung (1 Jod, 2 Jodjodkalium auf 100 Wasser) behandelt und in Anilinxylol, 1 Anilinöl auf 2 Xylol entfärbt, wobei mit dem Mikroskope kontrolliert wird. Kromayer färbt ähnlich; er nimmt statt Gentiana Methylviolett 6 B, färbt 5 Minuten und behandelt mit Lugolscher Lösung nur 1 Sekunde. Vorfärbung mit Karmin.

933. Fischel, R. färbt **Epithelfibrillen** ähnlich wie Kromayer in mit Wasser angeklebten Schnitten. Von Paraffin befreite Schnitte werden in Gentianaviolett 6b,

konzentriert gelöst in Anilinwasser, 10—15 Minuten gefärbt; darauf folgt gründliches Auswaschen in Wasser, 1—30 Sekunden in Lugolscher Lösung und abermaliges Auswaschen in Wasser. Jetzt werden die Schnitte vorsichtig mit faserfreiem Filtrierpapier, jedoch so, daß eine Spur eines feuchten Glanzes zurückbleibt (nicht vollständig abtrocknen), abgetrocknet und in Anilinxylol — $^1/_1$, $^1/_2$, $^1/_3$ Wasser, je nach der Schnittdicke — im Paraffinschrank differenziert, Xylol, Kanadabalsam. Nach Ehrmann und Fick. Vgl. auch Posini.

934. Korium und die Papillen derselben werden an in Flemmingscher Lösung, Überosmiumsäure und Sublimat (nachfärben mit Boraxkarmin) fixierten Präparaten untersucht. (Die Darstellung der Nervenendapparate in den Papillen siehe § 948 ff.) An Schnitten sind die Schweißdrüsen (glatte Muskeln derselben!) gut erhalten (sehr groß z. B. in der Achselhöhle des Menschen). Das **Bindegewebe der Cutis** wird nach der im § 470 angegebenen Methode dargestellt.

Mit 10%iger Kochsalzlösung läßt sich die Epidermis vom Korium abmazerieren.

935. Maximoff löst Neutralrot in physiologischer Kochsalzlösung bis zur Sättigung und erzeugt, unter Anwendung einer Pravazschen Spritze mit einer Spitzenkanüle, durch Einstich eine Ödemkugel im Korium. Dieser Kugel werden mit einer Schere Fetzen entnommen und gezupft. Kerne, Mastzellen, die Körper der Bindegewebszellen usw. erscheinen mehr oder weniger gefärbt.

936. Für die Darstellung **elastischer Elemente** der Cutis an Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens (siehe § 461) und der Taenzer-Unnaschen Orzeïnmethode (siehe § 463); ferner erwähnen wir folgende Methoden.

937. Nach Stöhr und O. Schultze färbt Safranin nach der Methode von Flemming für Kernfärbung angewendet, auch elastische Fasern der Haut und der Gefäße rot. Mit Osmiumsäure allein behandelte Präparate zeigen ebenfalls spezifisch gefärbte elastische Fasern.

938. Nach Martinotti kommen frische Hautstücke von 2—3 ccm in eine 2%ige Lösung von Arsensäure auf 24 Stunden, dann auf 5—15 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, dann in folgende Lösung: 2 g Silbernitrat werden in 3 ccm destil-

lierten Wassers gelöst und 15—20 ccm reines Glyzerin hinzugefügt. Nach 24 Stunden wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol gebracht und in diesem geschnitten. Die Schnitte kommen ganz kurze Zeit in eine physiologische Kochsalzlösung, dann in absoluten Alkohol. Diese Methode ist auch für andere Organe anwendbar.

Um nach der Färbung mit der Martinottischen Methode die elastischen Fasern rein schwarz, resp. den Grund farblos zu erhalten, empfiehlt Ferria, die Schnitte eine kurze Zeit in Ätzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen.

939. In jugendlicher Haut kommen normal elastischen Fasern ähnliche vor, welche sich mit basischen Farbstoffen imbibieren — **Elacin**fasern. Auch trifft man Fasern an, welche wie elastische sich färben lassen, aber das Aussehen von kollagenen Fasern haben — Kollastinfasern. Wie kollagene aussehende Fasern, welche aber basische Farbstoffe halten, heißt man Kollacinfasern.

940. Färbt man mit saurer Orceinlösung die Haut 10 bis 15 Minuten, wäscht mit verdünntem Alkohol und Wasser aus, färbt dann mit polychromer Methylenblaulösung 2 Minuten, wäscht wieder mit Wasser aus, behandelt die Schnitte mit 33 %iger Tanninlösung mit etwas Orange G-Zusatz einige Minuten, wäscht nun mit Wasser längere Zeit gründlich aus und schließt (durch Alkohol abs., Xylol) in Kanadabalsam ein, so färbt sich dabei nach Krzyształowicz **Elastin** und mit diesem verwandtes Kollastin mit Orcein dunkelbraun, Elacin und das ihm verwandte **Kollacin** und die Zellkerne blau, gewöhnliches Kollagen mit Orange gelb.

941. Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz, und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Mazerieren in Kalilauge (von 33 % unter Erwärmen, oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur) oder Natronlauge; mit Schwefelsäure konzentriert oder verdünnt, erzielt man ähnliche Resultate; auch Ammoniak (wochenlange Mazeration) führt zum selben Ziel. — Man erwärme das Haar mit Schwefelsäure in einem Uhrschälchen, bis sich das Haar zu krümmen beginnt, und untersuche alsdann in Wasser: Rinden- und Markschicht sind zerfallen in ihre Bestandteile, das Haaroberhäutchen ebenfalls.

942. Für die Untersuchung der **Haare** und deren **Wurzelscheiden** verwende man mit Müllerscher Flüssig-

keit oder mit Alkohol fixierte Objekte, welche beliebig gefärbt und so geschnitten werden, daß die Haare entweder genau quer oder längs (das Orientieren macht oft Schwierigkeiten) getroffen werden. Alles im § 919 Gesagte hat auch hier Gültigkeit.

943. Zur Gewinnung feiner Schnitte durch die Haare rasierte sich Henle zweimal kurz hintereinander und nahm die beim zweiten Male erhaltenen Haarschnitte unter das Mikroskop.

944. Will man aber verschiedene Teile der Haare und der Haarwurzelscheiden in verschiedenen Farben zur Darstellung bringen, so verwende man Karmalaun-Indigokarmin (siehe § 292) oder färbe nach Hämalaun mit Eosin, Orange- und anderen Teerfarbstoffen nach.

Jodmethylviolett färbt besonders leicht die innere Haarwurzelscheide (Unna).

»Es gibt wohl kaum ein Körpergebilde, welches sich besser für die reiche Skala der Teerfarben eignet, wie Haar und Haarbalg« (Fr. Merkel, Ergebnisse B. I., S. 226 [92]).

945. Das Material für Untersuchung der **Nägel** an Schnitten, wenn man den harten Nagel selbst nicht durch Schaben entfernen will, wird Föten und Kindern der ersten Lebensjahre entnommen. Die Elemente des Nagels isoliert man in konzentrierter Kalilauge, welche man bis zum Kochen erwärmt, dann abkühlt. Fetzen des weich gewordenen Nagels lassen sich auf dem Objektträger durch Andrücken des Deckglases isolieren.

946. Onychin ist in Essigsäure, Salpetersäure, in Alkalien, sowie in künstlicher Verdauungsflüssigkeit unlöslich. W. Krause, Hertwigs Handbuch.

947. Sensible Nervenendigungen der Haut. Wir beschränken uns auf die Darstellungsweise weniger sensibler Nervenendapparate: Meißnersche, Herbstsche, Grandrysche, Vater-Pacinische Körper, Fibrillen und Telodendrien der Epidermis und die Tastscheiben. Diese Endapparate haben wir aus der großen Zahl der bereits bekannten herausgegriffen, weil sie leicht zugänglich sind und ohne besondere Schwierigkeiten zur Ansicht gebracht werden können, und weil sie von allen Typen der sensiblen Nervenendigungen eine Vorstellung zu geben geeignet sind. Für das Studium der sensiblen Nervenendigungen berücksichtige man in erster Linie die Gold-

methoden: die von Ehrlich, Golgi-Ramon y Cajal und Bielschowsky; speziell heben wir nachstehend folgendes hervor.

948. Die **Meißnerschen Körperchen** sind an beliebig fixierten und tingierten Querschnitten durch die Papillen der Haut an denjenigen Stellen, wo sie zahlreich vorkommen, z. B. an der Volarfläche der Endglieder der Finger, ohne weiteres auf jedem Schnitt als quergestrichelte ovale Körper in denselben zu erkennen.

949. Eine alte Methode besteht in folgendem: Die Haut wird von der Endphalanx der Finger oder Zehe abpräpariert und einige (bis 10) Minuten gekocht. Das Wasser samt dem Hautstück läßt man kalt werden, dann nimmt man es heraus. Es läßt sich nun die Epidermis abziehen; auf dem Cutisstück sieht man mit der Lupe intakte Papillen, die man mit einem Rasiermesser abtragen kann. Diese Papillen werden auf einem Objektträger deponiert, mit einer etwa 3%igen wässerigen Eisessiglösung behandelt und mit einem Deckglase bedeckt. Nach einer Stunde bereits sieht man in vielen Papillen Meißnersche Tastkörperchen als ovale quergestreifte Körper und zuweilen sogar den hinzutretenden Nerv.

950. Will man die Ausdehnung der Markscheide der hinzutretenden Nervenfaser kennen lernen, so behandle man ein kleines Hautstück mit Osmiumsäure (s. § 47) und schneide senkrecht auf die Oberfläche der Haut, um die Papillen der Länge nach zu treffen.

951. Um die Beziehungen der Nervenfasern zum Meißnerschen Körperchen zu eruieren, vergolde man die Hautstücke nach der im § 608 erwähnten Löwitschen Methode.

952. Die **Herbstschen** und die **Grandryschen Körperchen** kommen in der Wachshaut des Entenschnabels und in den Gaumenleisten desselben Vogels vor. Sie lassen sich als solche bei beliebiger Fixierung und Färbung erkennen.

Eine wahre Fundgrube der Herbstschen Körperchen ist die Zunge von Spechten (Dr. Ludwig Ferdinand, Prinz von Bayern, 84).

953. An mit Osmiumsäure behandelten Stücken sieht man den Nerv, soweit er markhaltig ist, in Beziehung zu den Körperchen treten.

954. Will man die Nerven weiter verfolgen, so greife man zu einer von Carrière (82) empfohlenen Böhmschen

Methode: Stücke einer frischen, mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) des Entenschnabels kommen in 50%ige Ameisensäure auf 20 Minuten; sie werden mit destilliertem Wasser flüchtig gewaschen und kommen auf ebensolange Zeit (20 Minuten) in eine geringe Menge einer 1%igen Goldchloridlösung. Die Stücke werden abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen, um in eine große Menge (etwa 300 ccm) Prichardscher Lösung übertragen zu werden; diese besteht aus Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, destilliertem Wasser 98; in dieser verbleiben die Stücke im Dunkeln 24—36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

955. Die größten und bekanntesten sensiblen Endapparate sind die **Vater-Pacinischen Körperchen.** Die Verbreitung derselben ist eine sehr große, wir erwähnen das Mesenterium der Katze als eine Fundgrube für solche; sie sind da mit bloßem Auge leicht wahrzunehmen.

956. Diese Körperchen lassen schon im frischen Zustande unter dem Mikroskop vieles erkennen. Man untersuche in physiologischer Kochsalzlösung.

957. Will man sich überzeugen, daß die Lamellen aus Endothelzellen zusammengesetzt sind, so versilbere man die Körperchen nach § 378.

958. Nerven der Epidermis. Nach der Goldmethode (siehe § 608) oder nach der folgenden:

959. Stückchen der Haut werden mit einer $^1/_2$%igen Arsensäure angesäuert, sie kommen sodann $^1/_2$ Stunde in eine 1—2%ige Goldchloridlösung und werden schließlich in eine 1%ige Arsensäure übertragen, wo die Reduktion erfolgt (Goldscheider, 86). (Objekt Tastballen).

960. Tastscheiben vom Rüssel des Schweins. Methode von Löwit (siehe § 608), hierfür empfohlen von Bonnet (78).

Bonnet verfährt nach einer modifizierten Weigertschen Methode. Die Hautstücke werden in $^1/_3$%iger Chromsäure fixiert, geschnitten, mit Hämatoxylin überfärbt und mit alkoholischer Lösung von rotem Blutlaugensalz bis zur scharfen Differenzierung behandelt.

961. Haut etc. jüngerer Tiere behandle man auch nach Ramon y Cajal (siehe § 657 und 671).

Literatur zu Kapitel 17: Ledermann und Ratkowski (94), Joseph und Loewenbach (00).

18. Kapitel. **Auge.**

962. Der von Muskeln und lockerem Bindegewebe bis auf die Sklera befreite ganz frische **Augapfel** wird mit Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 37) fixiert. Ein Augapfel von der Größe des menschlichen darf mindestens 3 Wochen darin belassen werden. Der Bulbus wird dann sorgfältig in fließendem Wasser ausgewaschen und in Spiritus von allmählich steigender Konzentration übergeführt. Ist ein Auge sehr klein, so kann man es ganz im Stück färben und schneiden. Auch nach § 69, aber nur 1 Tag.

963. Es ist von einer Paraffindurchtränkung hierbei abzuraten, da Sklera, und namentlich die Linse, in Paraffin viel zu hart werden. Man durchtränke daher mit Zelloidin. Größere fixierte Augen werden unter Spiritus mit einer scharfen Schere durch einen äquatorialen Schnitt eröffnet, der Glaskörper entfernt und Stücke aus verschiedenen Regionen, die alle Augenhäute enthalten, herausgeschnitten und weiter bearbeitet.

964. Flemmingsche, Merkelsche, Zenkersche Flüssigkeit, Salpetersäure (siehe § 76) Sublimat-Salpetersäure (gesättigte Sublimatlösung 100, Salpetersäure 5) können ebenfalls als Fixierungsmittel für das ganze Auge empfohlen werden.

Merkelsche (70) Flüssigkeit: Platinchlorid 1: Wasser 400, Chromsäure 1: Wasser 400 zu gleichen Teilen. Die Bulbi werden halbiert und 3—4 Tage eingelegt.

965. Schnitte, welche durch die ganze Dicke des Auges geführt sind, lassen eine allgemeine Orientierung über die **Topographie der Augenhäute** und deren Schichtung zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, dafür sind speziellere Wege einzuschlagen.

966. Corneae kleinerer Tiere, frisch ausgeschnitten, können in indifferenten Flüssigkeiten oder in der Kammerflüssigkeit, die man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in den Augapfel gewinnt, vor Verdunstung geschützt, untersucht werden.

967. Das **vordere Epithel** wird an Schnitten, einer mit Müllerscher oder Flemmingscher Lösung behandelten Hornhaut entnommen, studiert. Als Mazerationsflüssigkeit verwende man $^1/_3$ Alkohol.

968. Das **Descemetsche Endothel** kann durch **Versilberung** und nachträgliche Färbung zur Darstellung gebracht werden (siehe § 378).

969. Zur Untersuchung des Endothels der Cornea injiziert Nuel sofort, nachdem das Tier getötet wurde (Kaninchen, Vogel), in die vordere Augenkammer 1—2%ige Ameisensäure, nachdem vorher Humor aqueus abgeflossen ist. Dann wird das Auge enukleirt und 3—5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt. Dann kann man die Cornea ausschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen, Nuel et Cornil (90).

970. Bei einem frisch getöteten Tiere schneidet man die Cornea am Hornhautrande heraus, krempelt sie um und taucht sie auf 5 bis höchstens 10 Minuten in Eisessigsublimatlösung. Das fixierte Epithel der Descemetschen Haut läßt sich nun bequem mit einem Pinsel fetzenweise ablösen. Statt Sublimat-Eisessig kann die Flemmingsche Lösung gebraucht werden. Weitere Behandlung mit Alkohol; Färbung mit Hämatoxylinlack nach M. Heidenhain. Als besonders günstiges Objekt wird die Katze empfohlen. Es färben sich in Epithelien Gebilde, welche an Golgi-Netze in Spinalganglien erinnern. (Ballowitz 00).

971. Die **Grundsubstanz der Hornhaut** läßt sich nach Mazeration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaurem Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen (Rollett, 72). Gewöhnliche kollagene Bindegewebsfasern quellen in Wasser nicht auf, wohl aber die Fasern der Hornhautgrundsubstanz. In der Grundsubstanz der Pferdehornhaut findet man nach Ciaccio eine beträchtliche Menge elastischer Fasern vor.

972. Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus und überträgt dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunklem Grunde: **negative Versilberung** (Ranvier 81).

973. Die dickeren Hornhäute größerer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läßt man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz, und die Hornhautkörperchen werden dunkel: **positive** Bilder (Ranvier 81).

974. Leber (68) behandelt die Cornea eines Frosches kurze Zeit mit einer $^1/_2$—$1\,^0/_0$igen Lösung von Eisenoxydsulfat; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine $1\,^0/_0$ige Lösung von Ferricyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

975. Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden.

Speziell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier (89) Goldchloridkalium in einer $1\,^0/_0$igen Lösung.

Eine Froschhornhaut kommt auf 5 Minuten in Zitronensaft (siehe § 610), dann auf $^1/_4$ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung; reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 ccm) angesäuertem Wasser 1—2 Tage.

976. Hornhautkörperchen mit Ausläufern (deren Ausgüsse) können auch nach der Altmannschen Methode (siehe § 708) dargestellt werden.

Siehe auch Ranvier (81).

977. Wenn man die Hornhaut in einer feuchten Kammer Osmiumsäuredämpfen aussetzt und dann in Wasser untersucht, so bekommt man sehr deutliche Bilder der Hornhautkörperchen. Hornhautfibrillen, im Gegensatz zu gewöhnlichen Kollagenen, quellen im Wasser und brechen im aufgequollenen Zustande das Licht anders wie die Hornhautzellen, und deshalb werden diese deutlich sichtbar.

978. Die **Sklera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (§ 449 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

979. Die **Vasculosa** und **Iris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

980. Die Lymphgefäße der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden (siehe § 707 und bei Altmann [79], Seite 500 ff.).

981. An fixierten pigmentierten Augen kann man auf Kosten der guten Konservierung das Pigment mit Chlor- oder Bromwasser zerstören, (s. Bleichen der Pigmente § 363 ff.).

982. Die **Linse** ausgewachsener Tiere läßt sich, es mag die Vorbehandlung sein, welche sie wolle, schlecht schneiden,

eher in Zelloidin, in Paraffin nur dann, wenn man nach jedem Schnitt die Schnittfläche des Paraffinblocks mit heißem Paraffin vermittelst eines weichen Pinsels rasch bestreicht. Diese Methode ist für harte und brüchige Objekte überhaupt zu empfehlen. Die Linsen älterer Tiere müssen vor dem Schneiden ausgebohrt, d. h. es muß der sog. Kern entfernt werden (C. Rabl, 94 und 00).

983. An mit starker Salpetersäure (bis 30%) mazerierten Linsen lassen sich leicht die **Linsenfasern isolieren.**

984. Levi (04) wendet für die Isolation der Linsenfasern 1—2%ige Natron-Fluoridlösung an.

985. Isolation der Linsenfasern mit 1/3 Alkohol. Frische Linsen werden 2 Stunden eingelegt, dann wird die Linsenkapsel durch Anstechen eröffnet, es verbleiben die Linsen noch 24 Stunden in 1/3 Alkohol; es wird nun auf dem Objektträger in Glyzerin gezupft und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet. Man studiere die verschiedenen Formen der Linsenfasern, vor allem beim Fisch und Säugetier.

986. Retinae größerer Tiere sind an in toto behandelten Augen in der Regel mangelhaft fixiert, weil sie sich verändern, ehe die fixierende Flüssigkeit durch die Sklera gedrungen ist. In solchen Fällen muß die Retina nebst Chorioidea unter Kochsalz rasch nach den bekannten Regeln isoliert und dann fixiert werden, oder das Auge wird durch einen Schnitt (äquatorialen) halbiert und nach Entfernung des Glaskörpers mit fixierender Flüssigkeit behandelt.

987. Als solche sind zu empfehlen: Müllersche Flüssigkeit (1—2 Wochen lang), Salpetersäure von 3% (24 Stunden auswaschen und dann 70%iger Spiritus), Flemmingsche Flüssigkeit und vor allem die Osmiumsäure.

988. Diese wird nach Ranvier (89) folgendermaßen angewandt: Augen kleinerer Tiere: Maus, Triton, Frosch etc. werden herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus zu drücken) mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit **Osmiumsäure**dämpfen 1/4—1/2 Stunde geräuchert (siehe § 49). (Größere Bulbi müssen vor der **Räucherung** eröffnet und Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden.) Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert, und man kann das Auge unter 1/3 Alkohol durch einen

äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3—4) Stunden belassen. Die hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol behandelt und in Paraffin geschnitten.

989. Zürn empfiehlt eine heißgesättigte Sublimatlösung in physiologischer Kochsalzlösung mit 1—1,5% Eisessig als die beste Fixierungsflüssigkeit für Retina.

990. Man achte darauf, ob man **Dunkeltiere** oder dem Licht ausgesetzte fixiert, denn die Pigmentverteilung in der Retina und die Länge der Innenglieder der Zapfen verändern sich. Letztere werden nach Engelmann (85) bei **belichteten Tieren** kürzer.

991. Osmiumsäure schwärzt die Stäbchen verschiedener Tiere, z. B. die des Frosches (Ranvier).

992. Um **Sehpurpur** in Schnittpräparaten sichtbar zu machen, gibt Stern (Referat von Schiefferdecker) folgende Methode an: Ein Frosch wird 2 Stunden im Dunkeln gehalten (maximale Purpurbildung nach Kühne), bei rotem Lichte dekapitiert, die vordere Bulbushälfte samt Linse (bei erhaltenen Orbitalknochen, welche erst später entfernt werden) weggeschnitten und in 2,5%ige Platinchloridlösung (0,5—10%ige wirkt annähernd gleich) auf 12—14 Stunden eingelegt. Man entfernt nun die Orbitalknochen, entwässert in Alkohol, bettet durch Xylol in Paraffin ein und schneidet 10—20 μ dick. Die Außenglieder der Stäbchen sind intensiv orange gefärbt. Außer beim Frosch geht diese Methode bei Kaninchen und Katze sehr gut. Auch Sublimat fixiert Sehpurpur in gelber Farbe, diese geht aber durch die Behandlung mit Alkohol, Xylol usw. verloren.

993. Ist die Sklera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

994. Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, daß man, ohne Flachschnitte untersucht zu haben, schwerlich zu einer richtigen Vorstellung über den Bau der Zwischenkörnerschicht z. B. gelangen kann.

995. Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Außenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10%ige Chloralhydratlösung anzuführen (Krause, 84).

996. Die Retinae lassen sich im allgemeinen gut färben, und die Mehrfachfärbungen liefern (außer nach Osmiumsäurebehandlung) farbenreiche Bilder, welche für Demonstrationszwecke z. B. unter Umständen Nutzen bringen.

997. Dogiel setzt seine Methode der Retinafärbung näher auseinander: »Ein eben enukleirtes Auge eines Warmblüters wird durchschnitten, die Retina in Fetzen mit Pigmentschicht und Glaskörperresten vorsichtig aufgehoben, mit der äußeren Fläche nach oben, auf breite Objektträger gebracht und deren Oberfläche oder aber der Objektträger am Rande des Präparats mit einigen Tropfen einer $^1/_6$ bis $^1/_8$%igen Methylenblaulösung benetzt. Nach 5 Minuten wird jedes Stück auf ein reines Objektglas, doch dieses Mal mit der Nervenfaserschicht nach oben, übertragen, der Glaskörper teilweise vorsichtig mit einer Schere entfernt und dasselbe oder der Objektträger am Rande des Präparats mit 2—3 Tropfen einer Methylenblaulösung angefeuchtet. Die Objektgläser werden alsdann in einer flachen Schale, die gut schließt, geordnet und in derselben in einem Thermostaten aufgestellt; von Zeit zu Zeit muß die Färbung der Nervenelemente unter dem Mikroskop kontrolliert werden; nach 30—40 Minuten hat die Färbung gewöhnlich den Höhepunkt erreicht, worauf die Präparate entweder direkt auf dem Objektglas fixiert oder aber von letzterem abgehoben und in die Fixierungsflüssigkeit gebracht werden. Bei kleinen Warmblütern nimmt man am besten die ganze Netzhaut auf einmal heraus, ebenso wie bei kleinen Kaltblütern (Frosch), bei denen jedoch die Färbung bei Zimmertemperatur vor sich geht.«

998. Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füßchen der **Müllerschen Fasern.**

999. Für die Retina empfiehlt Ramon y Cajal (94a; vgl. auch § 671) folgendes, nach Golgi modifiziertes Verfahren:

1. Eintauchen der hinteren Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in

Kaliumbichromat 3%—20 ccm
Osmiumsäure 1%—5—6 ccm
auf 1—2 Tage.

2. Man trocknet dann die Stücke vorsichtig mit Fließpapier und überträgt sie in $^3/_4$% Höllensteinlösung auf 24 Stunden.

3. Ohne vorheriges Abwaschen kommen die Stücke in die erste Osmiumbichromatlösung. Letztere muß etwas weniger Osmiumsäure enthalten (auf 20 ccm Kaliumbichromat von 3% etwa nur 2—3 ccm der 1%igen Osmiumsäure). 24—36 Stunden.

4. Abermaliges Einlegen in $^3/_4$% Höllensteinlösung auf mindestens einen Tag.

Um Niederschläge auf ein Minimum zu reduzieren, empfiehlt es sich, die abgelösten Retinae vor der Behandlung aufzurollen. Um das Wiederabrollen zu verhüten, übergießt man die Rolle mit dünnem Kollodium oder Zelloidin.

1000. Um **Neurofibrillen der Retina** darzustellen, gibt R. y Cajal (04) zwei Methoden an. A. Frische Netzhautstücke von ausgewachsenen Kaninchen werden mit Sclera 3 Tage lang im Thermostat bei 30—35° in einer 1,5%igen Lösung von Silbernitrat belassen, in dest. Wasser einige Sekunden abgespült und auf 24 Stunden in Hydrochinon (resp. Pyrogallussäure) 1 g, Formol 5—10 ccm und 100 ccm dest. Wasser eingelegt. Nach kurzem (einige Minuten) Abspülen in dest. Wasser härtet man in Alkohol von steigender Konzentration und schneidet in Zelloidin. B. Man fixiert in 50 ccm Alkohol von 96% mit 5 Tropfen Ammoniak, 24 Stunden; nachdem man einige Sekunden in dest. Wasser gewaschen, überträgt man das Präparat auf 4 Tage in eine 1%ige Silbernitratlösung bei 30°; weiter wie bei A. Wenn man zu der Reduktionsflüssigkeit $^1/_5$ von 96% Alkohol zusetzt, so heben sich die Fibrillen besser von der Grundsubstanz ab. In dieser Arbeit gibt R. y Cajal einen Versuch einer vorläufigen Theorie seiner Färbung.

1001. Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Außenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne, Dreser, (86).

Weitere Literatur zu Kapitel 18: Greef, Seligmann.

19. Kapitel. **Ohr.**

1002. Bei der Behandlung der schallperzipierenden Organe gebricht es beim Anfänger in der Regel an der

genauen Kenntnis der Lage derselben innerhalb des Felsenbeins bei den verschiedenen Tieren. Man fange deshalb lieber mit Objekten an, die, ohne genauer makroskopisch zergliedert zu werden, eine Behandlung mit dem (von Weichteilen befreiten) Felsenbeine zulassen.

Die **Cochlea** erzeugt **bei Nagern** scharf gezeichnete Vorsprünge im Cavum Tympani, und es ist die Möglichkeit des genauen Orientierens vor dem Schneiden dadurch gegeben. Bei größeren Nagern kann man vor oder nach dem Fixieren die Schnecke abmeißeln, resp. abzwicken, und erst dann weiter behandeln.

1003. Solche Felsenbeine werden in Müllerscher Flüssigkeit oder in Flemmingscher Lösung fixiert und dann eventuell entkalkt.

1004. Die Schnecke wird, nach Retzius (84) eröffnet, eine halbe Stunde mit einer $^1/_2$%igen Überosmiumsäurelösung fixiert, darauf ebensolange Zeit mit $^1/_2$%iger Goldchloridlösung behandelt. Es wird nicht weiter entkalkt, das Cortische Organ stückweise herauspräpariert und untersucht oder nach Entfernung von Knochen geschnitten.

1005. Nach Ranvier (89) eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einem Osmiumsäuregemisch (2% gelöst in physiologischer Kochsalzlösung). Man lasse alsdann dasselbe zwölf Stunden einwirken und entkalke mit einer 2%igen, oft zu wechselnden Chromsäure. Die Entkalkung für Meerschweinchen dauert eine ganze Woche.

1006. Das Cortische Organ kann nach § 1014 behandelt werden ($^1/_3$ Alkohol, dann Überosmiumsäure, resp. deren Dämpfe), (siehe § 49).

1007. Als **Entkalkungsflüssigkeit** ist die schweflige Säure, für sehr kleine Schnecken (wie die des Meerschweinchens) auch eine 3%ige Salpetersäure und gesättigte Pikrinsäurelösung anderen vorzuziehen. Schnecken größerer Tiere müssen unter der fixierenden Flüssigkeit eröffnet, fixiert und dann entkalkt werden. Geschnitten wird in Zelloidin oder Photoxylin. Letzteres, da durchsichtig, erleichtert die Orientierung.)

1008. Labyrinth des erwachsenen Menschen. Wir führen hier zwei Beispiele an, die sehr befriedigende Resultate, auch was die Erhaltung des Sinnesepithels betrifft, ergaben (A. Scheibe).

Die Felsenbeinpyramide wird nach den üblichen Regeln abgetrennt, die Schnecke und der obere Bogengang werden eröffnet. Man lasse die Müllersche Flüssigkeit 3 Wochen lang einwirken, wechsle diese in der ersten Woche alle Tage einmal, dann alle zwei Tage. Es wird alsdann 24 Stunden mit fließendem Wasser gewaschen, in 80%igen Alkohol auf 14 Tage, in 96%igen auf ein paar Tage und in die Entkalkungsflüssigkeit — 5%ige Salpetersäure, welche täglich zu wechseln ist (§ 509) — auf 10—15 Tage übertragen. Es wird nun 2 Tage lang in fließendem Wasserleitungswasser gewaschen und in 80%igen Spiritus auf 24 Stunden, dann in 96%igen übertragen; im Spiritus letzterer Konzentration verbleiben die Stücke 6—8 Tage und werden mit Zelloidin durchtränkt (siehe § 119 f.) und geschnitten. Auch folgende Methode hat befriedigende Resultate ergeben: Die abgetrennte Pyramide mit eröffneter Schnecke und eröffnetem oberen Bogengang wird 2 Tage lang mit Müllerscher Flüssigkeit bei Zimmertemperatur behandelt, kommt alsdann in derselben oft zu wechselnden Flüssigkeit auf 3 Wochen in einen Thermostaten (33° C), wird 48 Stunden in fließendem Wasser gewaschen, wird in 80%igen Spiritus auf 14 Tage, aus diesem in 96%igen auf 8 Tage übertragen, entkalkt usw. und dann mit Zelloidin durchtränkt und geschnitten.

1009. Alexander, G. benutzt als Entkalkungsflüssigkeit Formol 5, Salpetersäure v. spez. Gew. 1,40 5, Wasser 100. Die Gehörorgane werden nach der üblichen Teilung, Isolierung und Verkleinerung der Felsenbeine möglichst rasch nach dem Tode in 10%igem Formol fixiert, in Alkohol nachgehärtet und **in Zelloidin** eingebettet; sie werden samt Zelloidin entkalkt. Die Entkalkungsflüssigkeit dann täglich gewechselt. Entkalkungsdauer für menschliches Material etwa 15 Tage. Nach der **Entkalkung,** die an dem in Zelloidin eingebetteten Objekt vorzüglich gelingt, wird das Präparat entsäuert, nachgehärtet und auf 2 Stunden in absol. Alkoholäther zu gleichen Teilen, sodann auf 12 Stunden in dicke Zelloidinlösung gebracht, eingebettet und in 80%igen Alkohol gelegt; das Objekt ist nun schnittfähig.

1010. Pray, A. fixiert Felsenbeine, bettet sie **in Paraffin** ein, entfernt das Paraffin nach der Erkaltung desselben mit dem Messer bis auf den Knochen und nimmt die **Entkalkung** samt dem Paraffin vor. Nach Wässerung

und Nachhärtung mit Alkohol wird noch einmal in Paraffin eingebettet, um zu schneiden. Das häutige Labyrinth wird dabei viel besser als sonst erhalten, und die Teile werden kaum disloziert.

Alte Literatur für Kapitel 19: Politzer A. (89).

20. Kapitel. **Nase.**

1011. Um Orientierungspräparate von der **Nasenschleimhaut** zu erlangen, muß man von z. B. in Flemmingscher Lösung fixierten, natürlich der regio respiratoria sowohl, als der regio olfactoria entnommenen Stücken Querschnitte anfertigen. Es empfiehlt sich, Schleimhautstücke der letztgenannten Region in reiner Osmiumsäure (1%, siehe § 47) zu fixieren, da die Olfactoriusfasern und Fibrillen, im Gegensatz zu den Remakschen Fasern (siehe § 603), sich mit Osmiumsäure bräunen.

1012. Epithelien der regio respiratoria werden mit $^1/_3$ Alkohol (siehe § 369) isoliert.

1013. Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in $^1/_3$ Alkohol mazerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden sonst vielfach verändert.

1014. Um diesen Mißständen aus dem Wege zu gehen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1—2 Stunden mit $^1/_3$ Alkohol mazeriert, dann fünf Minuten bis eine Viertelstunde mit Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann im Wasser gezupft werden, die Zellen behalten ihre Form und können in Glyzerin eingeschlossen werden.

1015. Die Methode von Golgi, auf die Schleimhaut der Nase jugendlicher Tiere und der Föten angewendet, hat hier zur Erkenntnis der bedeutungsvollen Tatsache geführt, daß die **Riechzellen der regio olfactoria** peripher gelegene Ganglienzellen sind (Ramon y Cajal, 94b).

Literatur-Verzeichnis.*)

Im Literaturverzeichnis steht hinter dem Namen der Autoren eine fettgedruckte Zahl, welche die Jahreszahl, in der die betreffende Arbeit erschienen ist, bezeichnet. Die Zahlen sind abgekürzt und beziehen sich meistens auf die Jahre des vorigen Jahrhunderts. **00—08** bedeutet **1900—1908.**

Abbe, E., **78.** Über Blutkörper-Zählung. Sitzungsber. d. Jen. Ges. f. Med. u. Naturw.

Achard, C. et **Aynaud,** M., **06.** Sur le rôle du chlorure de sodium dans l'imprégnation histologique des tissus par l'argent. C. R. Acad. Sc. Paris.

—, —, **06.** Sur l'imprégnation histologique par les précipités colorés. C. R. Acad. Sc. Paris.

Afanassiew, M., **84.** Über den dritten Formbestandteil des Blutes im normalen und pathologischen Zustand etc. Arb. Med.-Klin. Inst. Univers. München. Bd. 1, 2. Heft, p. 556—592, T. 15.

Albrecht, E., **07.** Die Schicksale der roten Blutkörperchen. Süddeutsche Monatshefte, 4. Jahrg.

Alexander, G., **05.** Die Anatomie der Taubstummheit. Wiesbaden.

Altmann, R., **79.** Über die Verwertbarkeit der Korrosion in der mikroskopischen Anatomie. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 471 bis 507, T. 21—23.

—, **92.** Ein Beitrag zur Granulalehre. Verh. Anat. Ges. 6. Vers. p. 220—223.

—, **94.** Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. p. 1—160, 9 Fig. und 35 T. 2. Aufl. Leipzig.

*) Enthält die im Texte zitierten Arbeiten; bei mehreren Arbeiten ein und desselben Autors entscheidet die beigesetzte Jahreszahl, eventuell bei mehreren Arbeiten aus einem Jahr a, b etc. — Wir haben weniger Wert darauf gelegt, diejenigen Arbeiten zu zitieren, durch welche neue Methoden zuerst eingeführt wurden, vielmehr beabsichtigen wir, ein Nachschlagen zu weiterer Information zu ermöglichen.

Ambronn, H., **92.** Anleitung zur Benutzung des Polarisations-Mikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig.

Apáthy von, S., **87.** Methode für Verfertigung längerer Schnittserien mit Zelloidin. Mitteilg. aus d. Zool. Station zu Neapel. 7. Bd.

—, **88.** Nachträge zur Zelloidintechnik. Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. Bd. 5.

—, **89.** Mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 6. Bd.

—, **96** und **01.** Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie, 1. Abteilung. Braunschweig. 2. Abteilung. Leipzig.

—, **97.** Ein neuer Messerhalter mit Nachtrag. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 14. Bd.

—, **97a.** Das leitende Element des Nervensystems. Mitt. zool. Stat. Neapel, 12. Bd.

—, **98.** Über die Bedeutung des Messerhalters in der Mikrotomie. Ertesitö, 19. Bd.

Argutinsky, P., **00.** Eine einfache und zuverlässige Methode, Zelloidinserien mit Wasser und Eiweiß aufzukleben. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 55, p. 415—419.

Arnold, J., **96.** Zur Technik der Blutuntersuchung. Zentralbl. f. Allg. Path. u. Pathol. Anat. Bd. 7.

Arnstein, C., **87.** Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. Anat. Anz. Bd. 2.

Askanazy, M., **02.** Über das basophile Protoplasma der Osteoblasten, Osteoklasten und andere Gewebezellen. Zentralbl. für allg. Pathol. und patholog. Anatomie, 13. Bd.

Afsmann, G., **06.** Über eine neue Methode der Blut- und Gewebsfärbung mit dem eosinsauren Methylenblau. Münch. med. Woch.

Azoulay, L., **94.** Coloration de la myéline des tissus nerveux et de la graisse par l'acide osmique et le tanin ou ses analogues. Anat. Anz. Bd. 10, p. 25—28.

Ballowitz, E., **88.** Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32.

—, **00.** Über das Epithel der membrana elastica posterior der Hornhaut. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 56.

—, **03.** Artikel »Embryologische Technik« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik.

Barfurth, D., **91.** Über Zellbrücken glatter Muskelfasern. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

—, **93.** Die experimentelle Untersuchung über die Regeneration der Keimblätter bei den Amphibien, Anatomische Hefte 1. Abt., H. 9. (3. Bd., H. 2.)

Barlow, R., **95.** Mitteilungen über Reduktion der Überosmiumsäure durch das Pigment der menschlichen Haut. D^{II} Heft 5. Bibliotheca medica. Abt. D^{II}.

Bartel, J., **04.** Zur Technik der Gliafärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. 21. — Anat. Anz Ergänzungsheft zu Bd. 19.

Bayerischer Königskalender, 83. Gebr. Reichel in Augsburg.

Behrens, F., **98.** Die Herstellung gefärbter Leberpräparate. Zeitschrift f. angewandte Mikroskopie. **3.** Bd., p. 76—77.

—, W., **Kossel**, A., **Schiefferdecker**, P., **89.** Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig. H. Bruhn.

Benda, C., **87a.** Ein interessantes Strukturverhältnis der Mäuseniere. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **87b.** Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Samenkanälchens einiger Säugetiere und Folgerungen für die Spermatogenese dieser Wirbeltierklasse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30.

—, **00.** Erfahrungen über Neurogliafärbungen und eine neue Färbungsmethode. Neurolog. Zentralbl. 19. Jahrgang.

—, **01.** Die Mitochondriafärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verh. d. Anat. Gesellsch.

Beneke, 93. Über eine Modifikation der Weigertschen Fibrinfärbung. Ergänzungsh. z. 8. Jahrg. d. Anat. Anz.

Berg, W., **03.** Beiträge zur Theorie der Fixation mit besonderer Berücksichtigung des Zellkernes und seiner Eiweißkörper. Arch. f. m. Anat. 62. Bd.

Berkley, H. J., **93.** Studies in the Histology of the Liver. Anat. Anz., 8. Jahrg., p. 769—792. 22 Fig.

Bethe, A., **95.** Angaben über ein neues Verfahren der Methylenblaufixation. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 44.

—, **96.** Eine neue Methode der Methylenblaufixation. Anat. Anz. Bd. 12, p. 438—446.

—, **00.** Das Molybdänverfahren zur Darstellung der Neurofibrillen und Golginetze im Zentralnervensystem. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. 17.

—, **03a.** Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems. Leipzig.

—, **03b.** Artikel: ›Nervenfasern und -Zellen‹ in der Enzyklopädie der mikroskop. Technik.

—, **05.** Die Einwirkung von Säuren und Alkalien auf die Färbung und Färbbarkeit tierischer Gewebe. Hofmeisters Beiträge. 6. Bd.

Biedermann, W., **98.** Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 72, p. 105—162.

Bielschowsky, Max, **04.** Die Silberimprägnation der Neurofibrillen. Journal f. Psychologie und Neurologie. 3. Bd.

—, **05.** Die Darstellung der Achsenzylinder peripherischer Nervenfasern und der Achsenzylinder zentraler markhaltiger Nervenfasern. Ein Nachtrag zu der von mir angegebenen Imprägnationsmethode der Neurofibrillen. Ibid. Bd. 4.

Bielschowsky, M. und **Pollack,** B., **04.** Zur Kenntnis der Innervation des Säugetierauges. Neurolog. Zentralbl. 23. Bd.
Björkenheim, E. A., **07.** Zur Kenntnis der Schleimhaut im Uterovaginalkanal des Weibes in den verschiedenen Altersperioden. Anat. Hefte, 105. Heft.
Blochmann, F., **84.** Über Einbettungsmethoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1.
—. **89.** Eine einfache Methode zur Entfernung der Gallerte und Eischale bei Froscheiern. Zool. Anz.
Blum, F., **93.** Der Formaldehyd als Härtungsmittel. (Vorl. Mitt.) Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. X.
—. **96.** Über Wesen u. Wert der Formolhärtung. Anat. Anz. Bd. 11.
Böhm, A. A., **91.** Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. und Physiol. zu München.
Böhm, A. A., und **v. Davidoff,** M., **95** und **03.** Lehrbuch der Histologie des Menschen einschließlich der mikroskopischen Technik. 246 Abbild., XV, 404 pp. Wiesbaden 1895; 3. Aufl. 278 Abbild. XIV, 417 pp. Wiesbaden 1903.
Böhmer, F., **65.** Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. 12. Jgg.
Boeke, J , **03.** Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Teleostier. Petrus Camper. II. Bd.
Bonnet, R , **78.** Studien über die Innervation der Haarbälge der Haustiere Morph. Jahrb. Bd. 4, p. 329—398, T. 17—19.
Bonney, Victor, **06.** Eine neue und leicht ausführbare dreifache Färbung für Zellen und Schnitte. Virch. Arch. 185. Bd.
Borchert, Max, **04.** Über Markscheidenfärbung bei niederen Wirbeltieren. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abtlg., Verhandlungen d. Berl. physiol. Gesellschaft.
Born, G., **83.** Die Plattenmodelliermethode. Arch. f. mikr. Anat. Bd 22.
—, **88.** Noch einmal die Plattenmodelliermethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.
—, **93.** Ein neuer Schnittstrecker. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.
Born, G. und **Peter,** K., **98.** Zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XV.
Boveri, Th., **87.** Zellen-Studien. Heft 1, Jena.
Braus, H., **96.** Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. Semons Zool. Forschungsreisen. Bd. 2.
Bremer, L., **82.** Über die Endigungen der markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 21.
Browicz, 00. Über die Einwirkung des Formalins auf das in den Geweben vorfindbare Hämoglobin. Virch. Arch. 162. Bd.
Brücke v., E. Th., **06.** Über eine neue optische Täuschung. Zentralbl. f. Physiol. 20. Bd.
Brunk, A., **05.** Über die Acetonanwendung zur Paraffineinbettung, besonders zu einer einfachen Schnelleinbettungsmethode. Münch. Med. Wochenschr.

Bürker, K., **03.** Eine einfache Methode zur Gewinnung von Blutplättchen. Zentralbl. f. Physiologie. 17. Bd.
Burchardt, E., **97.** Bichromate und Zellkern. La Cellule 12. Bd.
Bütschli, O., **92.** Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 234 p., 23 Fig., 6 Taf. Atlas von 19 Mikrophotographien. Leipzig.
Cajal Ramon y, S., **94a.** Die Retina der Wirbeltiere. Untersuchungen mit der Golgi-Cajalschen Chromsilbermethode und der Ehrlichschen Methylenblaufärbung. Übersetzt von R. Greeff. Wiesbaden.
—, **94b.** Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. Paris.
—, **97.** Manual de histologia normal y técnica micrográfica. Valencia.
—, **03.** Méthode nouvelle pour la coloration des neurofibrilles Comptes rend. de la Soc. Biol. Paris. T. 55.
—, **04.** Über einige Methoden der Silberimprägnierung zur Untersuchung der Neurofibrillen, der Achsenzylinder und der Endverzweigungen. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie Bd. 20.
Cayal Ramon y, S., **04.** Trois modifications des usages différents de ma méthode de coloration des neurofibrilles par l'argent réduit. Comptes rend. de la Soc. Biol. Paris. T. 56.
—, **04.** Das Neurofibrillennetz der Retina. Intern. Monatsschr. für Anat. und Physiol. 21. Bd.
—, **04.** La méthode à l'argent reduit associée à la méthode embryonnaire pour l'étude de noyaux moteurs et sensitifs. Bibliographie anat. 13. Bd.
—, **05.** Une méthode simple pour la coloration élective du reticulum protoplasmatique et ses résultats dans les divers centres nerveux. Traduit de l'espagnol par L. Azouley. Bibliogr. Anat. Tome 14.
Carnoy, J. B. et **Lebrun,** H., **97.** La vesicule germinative et les globules polaires. La Cellule. 12. Bd.
Carrière, J., **82.** Kurze Mitteilungen zur Kenntnis der Herbstschen und Grandryschen Körperchen in dem Schnabel der Ente. Arch. Mikr. Anatomie. 21. Bd., p. 146—164, T. 6.
Caullery et **Charppellier 05.** Un procédé commode pour inclure dans la paraffine des objets microscopiques. Compt. rend. de la Soc. de Biol.
Chilessotti, Ermaus, **02.** Eine Karminfärbung der Achsenzylinder, welche bei jeder Behandlungsmethode gelingt. (Urankarminfärbung nach Schmaus modifiziert.) Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 13.
Chrzonszczewsky, N., **64.** Zur Anatomie der Niere. Virchows Arch. Bd. 31.
—, **66.** Zur Anat. u. Physiol. d. Leber. Virchows Arch. Bd. 35.
Ciaccio, G. V., **92.** Sur une particularité de structure dans la cornée d'un cheval. Journ. de Micrographie. 16. Bd.

Cohn, Ernst, **04.** Die v. Kupfferschen Sternzellen der Säugetierleber und ihre Darstellung. Beiträge z. patholog. Anat. und zur allgemeinen Pathologie. 36. Bd.
Cohnheim, 67a. Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Hornhaut. Virchows Arch. Bd. 34, p. 606—622, T. 14.
—, J., **67b.** Über Entzündung und Eiterung. Virchows Arch. Bd. 40, p. 1—79.
Cohnstein, W., **96.** Physiol. Permeabilität tierischer Membranen. Aus: Naturw. Rundschau. Jahrg. XI, Nr. 42. 17./10. 1896.
Corning, H. K., **1900.** Über die Methode von P. Kronthal zur Färbung des Nervensystems. Anat. Anz. 17. Bd., p. 108—111.
Corti, A. et **Ferrata,** A., **06.** Sur une inversion totale de l'affinité colorante avec le changement de liquide fixateur. Monitore zool. ital. ann. 16.
Cox, W. H., **90.** Impraegnatie van het centrale zenuwstelsel met Kwikzouten. Nederlandsch Tijdschrift for Geneeskunde. D. 12.
—, **91.** Imprägnation des zentralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. Arch. Mikr. Anat. 37. Bd., p. 16—21, T. 2.
—, **98.** Der feinere Bau der Spinalganglienzelle des Kaninchens. Anat. Hefte. 31. Heft, p. 73—104. Taf. 1—6.
Curtis, F., **05.** Méthode de coloration élective du tissu conjonctif. C. R. Soc. Biologie, Paris.
—, **07.** Comment faut-il inclure à la paraffine des pièces en tissu conjonctif? Echo med. du Nord.
Czapski, S., **93.** Theorie der optischen Instrumente nach Abbe. Breslau, E. Trewendt.
Czokor, J., **80.** Die Cochenille-Karminlösung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 18.
Daddi, L., **96.** Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus. Arch. ital. Biol. 26. Bd., p. 142—146.
Deetjen, H., **04.** Die Einwirkung verschiedener Ionen auf die Zellsubstanz. Berl. klin. Wochenschrift. 41. Bd.
—, **06.** Teilungen der Leukocyten des Menschen außerhalb des Körpers. Bewegungen der Lymphocyten. Arch. für Anat. und Physiol., physiolog. Abt.
Dejerine, J., **95.** Anatomie des Centres nerveux. Tome I. Paris.
Delamare, G., **05.** Mélange tétrachrome (coloration élective et simultanée des noyaux cellulaires, des fibres conjonctives, élastiques et musculaires. Compt. rend. de la Soc. de Biol.
Denker, A., s **Alexander,** G.
Diessen, L. F., **05.** Zur Glykogenfärbung. Zentralbl. für allg. Pathol. und pathol. Anat. 16. Bd.
Dippel, L., **82** und **98.** Das Mikroskop und seine Anwendung, I. Teil. Handb. d. allgemeinen Mikroskopie. 2. Aufl. Braunschweig, 1882; II. Teil, 2. Aufl. 1898.
Dogiel, A. S., **90.** Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien und Reptilien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35.

Dogiel, A. S., **02.** Technik der Färbung des Zentralnervensystems mit Methylenblau. Russisch. Ricker.

—, **03.** Artikel »Methylenblau zur Nervenfärbung« in der Encyklopädie der mikrosk. Technik.

Dreser, **86.** Zur Chemie der Netzhautstäbchen. Zeitschrift für Biologie. Bd. 22.

Dürck, H., **07.** Über eine neue Art der Fasern im Bindegewebe und in der Blutgefäßwand. Virch. Arch. 189. Bd.

Duval, M., **78.** Précis de technique microscopique et histologique. Paris.

Eberth, C. J., **71/72.** Die Nebennieren. In Strickers: Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

—, **82.** Untersuchungen über die Ursache der Anisotropie organischer Substanzen. Leipzig.

Ebner, V. v., **75.** Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitz.-Ber. Akad. Wien. Bd. 72, 3. Abt., p. 1—90, T. 1—4.

—, **91.** Histologie der Zähne mit Einschluß der Histogenese. In: Handb. d. Zahnheilkunde von J. Scheff jr., 1. Bd. Wien.

—, **99.** Über die Wand der kapillaren Milzvenen. Anat. Anz. Bd. 15

—, **05.** Über die histologische Veränderung des Zahnschmelzes während der Erhärtung, insbesondere beim Menschen. Arch. f. mikrosk. Anat. 67. Bd.

—, **06.** Diskussion in den Verhandl. d. Anatomischen Gesellschaft zu Rostock.

Ehrlich, P., **76.** Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. f. mikr. Anatomie, 13. Bd.

—, **85.** Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin.

—, **91.** Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Teil. (Enthält gesammelte Abhandlungen von ihm und Arbeiten seiner Schüler Westphal, Spilling, Schwarze.)

—, **93.** Über Neutralrot. Allg. med. Zentralzeitung, 04.

Ehrmann und **Fick**, **05.** Einführung in die mikroskopische Technik der normalen und kranken Haut. Wien.

Ellenberger, W., **06.** Beiträge zur Frage des Vorkommens, des anatomischen Verhältnisses und der physiologischen Bedeutung des Caecums, des Processus vermiformis und des cytoblastischen Gewebes in der Darmschleimhaut. Arch. f. Anat. u. Physiol.

Encyklopädie der mikroskopischen Technik, **03.** Herausgeg. von P. Ehrlich, R. Krause, Max Mosse, H. Rosin und Karl Weigert. Berlin und Wien.

Enderlen, E., **91.** Fasern im Knochenmarke. Anat. Anz.

Engel, C. S., **98.** Leitfaden zur Untersuchung des Blutes. Berlin.

Ewald, A., **90.** Zur Histologie und Chemie der elastischen Fasern und des Bindegewebes. Zeitschr. f. Biologie 26. Bd.

—, **97.** Beiträge zur histologischen Technik. Zeitschr. f. Biologie. Jubelband für Kühne 1896. N. F. 16. Bd. der ganzen Reihe 34. Bd., p. 246—267 (auf S. 254 dieser Arbeit lies Dr. Mays statt Dr. Mags).

Ewald, A., und **Kühne**, W., **74.** Die Verdauung als histologische Methode. Verh. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.) Bd. I, p. 451—456.

Falk, Fr., **67.** Histologie verwesender Organe. Zentralblatt für med. Wiss.

Faworski, A., **06.** Ein Beitrag zum Bau des Bulbus olfactorius. Journ. f. Psychol. u. Neurolog. 6. Bd.

Ferrara, Adolfo, **07.** Über die plasmosomischen Körper und über eine metachromatische Färbung des Protoplasmas der uninukleären Leukocyten im Blut und in den blutbildenden Organen. Virchows Arch. 187. Bd.

Fichera, G., **04.** Contribution expérimentale à l'étude de la physio-pathologie de la muqueuse gastrique. Arch. ital. de Biologie 42. Bd.

Fick, J., **02.** Über metachromatische Färbung des Keratohyalins durch Cresylechtviolett. Zentralbl. f. allg. u. pathol. Anat. 13. Bd.

Fick, Johannes, **05.** Aufklebemethode oder Schälchenmethode bei der Färbung von Paraffinschnitten. Zentralbl. f. allg. und pathol. Anat. 16. Bd.

Fick, R., **93a.** Über Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Verhandl. d. Anat. Gesellsch.

—, **93b.** Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 56.

Fischel, Richard, **05.** Technik der Kromayerschen Epithelfaserfärbung. Zentralbl. f. allg. u. path. Anat. 16. Bd.

Fischer, A., **93.** Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. Anat. Anz. 9. Bd.

—, **99.** Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, G. Fischer.

Fischer, B., **02.** Über die Fettfärbung mit Sudan III und Scharlach R. Zentralbl. f. allg. und path. Anat. 13. Bd.

Fischer, E., **75.** Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12.

—, **76.** Über die Endigungen der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbeltiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.

—, **05.** Eine neue Glykogenfärbung. Anat. Anz. 26. Bd.

Flechsig, P., **76.** Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen. Leipzig.

Fleischl, E., **74.** Über die Beschaffenheit d. Achsenzylinders. Beiträge Anat. Phys. Festgabe f. Karl Ludwig, p. 51—55. 1 Taf. Leipzig.

Flemming, W., **68.** Über den Ciliarmuskel der Haussäugetiere. Arch. f. mikr. Anat. 4. Bd.
—, **82.** Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. p. VIII und 1 bis 424. 24 Fig. und 8 Taf. Leipzig.
—, **86.** Surrogate f. Knochenschliffe. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.
—, **89a.** Über die Löslichkeit osmierten Fettes und Myelins in Terpentinöl. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, 6. Bd, p. 39—40.
—, **89b.** Weiteres über die Entfärbung osmierten Fettes in Terpentin und anderen Substanzen. Ibidem, p. 178—181.
—, **91a.** Über Teilung und Kernformen bei Leukozyten und über deren Attraktionssphären. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXVII, p. 249—298.
—, **91b.** Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. XXXVII, p. 685—751.
—, **95a.** Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45.
—, **95b.** Über den Bau der Spinalganglien bei Säugetieren, und Bemerkungen über den der zentralen Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.
Flesch, M., **80.** Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, p. 1—102, 5 T. Würzburg.
Flint, Joseph M., **02.** A new Method for the Demonstration of the Frame Work of organs. Johns Hopkins Hospital Bulletin, 13. Vol.
Fol, H., **84** u. **96.** Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie mit Einschluß der vergleichenden Histologie und Histogenie. p. 1—452, 220 Fig. Leipzig.
Forel, A., **77.** Untersuchungen über die Haubenregion und ihre oberen Verknüpfungen im Gehirne des Menschen und einiger Säugetiere mit Beiträgen zu den Methoden der Gehirnuntersuchung. Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkrankheiten. Bd. 7.
Foster und **Balfour,** übersetzt von **Kleinenberg,** N., **67.** Grundzüge der Entwickelungsgeschichte der Tiere, p. XX und 1—267, 71. Fig. Leipzig.
Franke, Ad., **81.** Die Reptilien und Amphibien Deutschlands. Leipzig.
Frey, H., **68.** Die Hämatoxylinfärbung. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 4.
Friedenthal, H. und **Poll,** H., **08.** Über Fixationsgemische mit Trichloressigsäure und Uronylazetat. Sitzber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin 1907 (nach einem Referat).
Friedländer, 82. Mikroskopische Technik. Berlin.
Fromann, C., **64a.** Über Färbung der Binde- und Nervensubstanz des Rückenmarkes durch arg. nitr. und über die Struktur der Nervenzellen. Virchows Arch. Bd. 31.
—, **64b.** Zur Silberfärbung d. Achsenzylinder. Virchows Arch. Bd. 31.

Froriep, A., **78.** Über das Sarkolemm und die Muskelkerne. Arch. f. Anat. und Physiol. Anat. Abt.

Fusari, R, **06.** Un metodo semplice di colorazione elettiva dei granuli delle cellule del Paneth vell intestino umano. Giorn. d. R. Acc. Med. di Torino.

Gad, J. (Methode von Chr. Sihler), **95.** Über eine leichte und sichere Methode, die Nervenendigung an Muskelfasern und Gefäßen nachzuweisen. Verhandl. der Berliner Physiol. Gesellschaft in: Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abt.

Gage, S. H. und S. P., **91.** Coloration et conservation permanentes des éléments histologiques par la potasse caustique ou l'acide nitrique. Journal de Micrographie. T. 15.

Gasser, **78.** Der Primitivstreif bei Vogelembryonen. Kassel.

Gaule, **81.** Das Flimmerepithel der Aricia foetida. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt. p. 153—159, 1 Taf.

Gerlach, J., **58.** Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. p. VI und 1—72, 8 Taf. Erlangen.

—, **67.** Zur Anatomie des menschlichen Rückenmarkes. Zentralbl. f. med. Wiss.

—, **71, 72.** Von dem Rückenmark. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. p. 665—693, Fig. 217—229. Leipzig.

Gierke, H., **84, 85.** Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschrift f. wiss. Mikr. Bd. 1 und 2.

Giesbrecht, W., **81.** Zur Schneide-Technik. Zool. Anz. 4. Jahrg.

Goetsch, Wilh., **06.** Über den Einfluß von Karcinommetastasen auf das Knochengewebe. Zieglers Beiträge 39. Bd.

Gött, Th., **06.** Die Speichelkörperchen. Internationale Monatsschr. f. Anat. und Physiol. 23. Bd.

Goldscheider, **86.** Demonstration von Präparaten, betreffend die Endigung der Temperatur- und Drucknerven in der menschlichen Haut. Verhandl. der Physiol. Ges. zu Berlin, 1885. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt.

Golgi, C., **94.** Untersuchungen über den feineren Bau des zentralen und peripherischen Nervensystems. p. 1—272, 30 Taf. Deutsch von R. Teuscher, Jena. (Enthält sämtliche Untersuchungen Golgis über das obige Thema seit 1871).

Grawitz, E., **02.** Methodik d. klinisch. Blut-Untersuch. 2. Aufl. Berlin.

Greef, R., **01.** Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung des Auges. 2. Aufl.

Grenacher, A., **79.** Einige Notizen zur Tinktionstechnik, besonders zur Kernfärbung. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 463—471.

Grosser, O., **00.** Injektion mit Eiweißtusche. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. 17.

Gryns, G., **05.** Kritisches über Hans Köppes Hypothese der Beschaffenheit der Blutkörperchenwände. 109. Bd.

Gscheidlen, R., **76.** Physiologische Methodik. Braunschweig.

Gudden, H., **97.** Über die Anwendung elektiver Färbemethoden am in Formol gehärteten Zentralnervensystem. Neurolog. Zentralblatt, 16. Jahrg.

—, **01.** Über eine neue Modifikation der Golgischen Silberimprägnationsmethode. Neurolog. Zentralblatt, 20. Jahrg.

Gulland, G. Lovell, **91.** A simple method of fixing paraffin sections to the slide. Journ. of anat. and physiol. Vol. XXVI, p. 56—59.

Günther, G., **07.** Über Spermiengifte. Pflügers Arch. 118. Bd.

Gurwitsch, A., **01.** Ein schnelles Verfahren der Eisenhämatoxylinfärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. 18.

Häcker, V., **99.** Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. 137 Abb. 260 p. G. Fischer, Jena.

Hällsten, **86.** Ein Kompressorium für mikroskopische Zwecke. Zeitschr. f. Biologie. Bd. 22.

Hagen, Clara, **06.** Die Molekularbewegung in den menschlichen Speichelkörperchen und Blutzellen. Pflügers Arch., 115. Bd.

Halliburton, W. D., **95.** Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie. Deutsch von K. Kaiser. 2. Aufl. Heidelberg.

Hammer, Bernh., **91.** Über das Verhalten von Kernteilungsfiguren in der menschlichen Leiche. Dissert. Berlin. 39 p.

Hannover, **40.** Die Chromsäure, ein vorzügliches Mittel bei mikroskopischen Untersuchungen. Joh. Müllers Archiv.

Hansen, Fr. C. C., **95.** Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins. Zool. Anz. Nr. 473.

—, **98a.** Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. Anat. Anz. 15. Bd., p. 151—153.

—, **98b.** Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 417—438.

—, **05.** Untersuchungen über die Gruppe der Bindesubstanzen. I. Der Hyalinknorpel. Anat. Hefte, 27. Bd.

Haug, R., **91a.** Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Eine technisch-histologische Studie. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.

—, **91b.** Über eine neue Modifikation der Phlorogluzin-Entkalkungsmethode. Zentralblatt f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 2.

Heidenhain, M., **92.** Über Kern und Protoplasma. Festschr. für Kölliker. Leipzig. p. 109—166, Taf. 9—11.

—, **94.** Neue Untersuchungen über die Zentralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellprotoplasma. Archiv für mikr. Anat. 43. Bd., p. 423—758, T. 25—31.

—, **96.** Noch einmal über die Darstellung der Zentralkörper durch Eisenhämatoxylin nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Hämatoxylinfarben. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 13, p. 186—199.

—, **02.** Über chemische Umsetzungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben. Pflügers Arch. 90. Bd.

—, **03.** Artikel »Färbungen« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik.

Heidenhain, M., **03a.** Über die Verwertung der Zentrifuge bei Gelegenheit der Herstellung von Präparaten isolierter Zellen zu Kurszwecken. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 20.
—, **03b.** Über die zweckmäßige Verwendung des Kongo und anderer Amidoazokörper, sowie über neue Neutralfarben.
—, **03c.** Neue Versuche über die chemischen Umsetzungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben, insbesondere unter Benutzung der Dialyse. Pflügers Arch. 96. Bd.
—, **05.** Über die Massenfärbung mikroskopischer Schnitte auf Glimmerplättchen. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 22. Bd.
—, **05.** Trichloressigsäure als Fixierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. 22. Bd.
—, **05.** Über Färbung ven Knochenknorpel für Kurszwecke. Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. 22. Bd.
—, **07.** Plasma und Zelle. 1. Abt., 1. Lief. Jena.
Heidenhain, R., **70.** Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6, p. 368—406, 2 Taf.
—, **80.** Physiologie der Absonderungsvorgänge. Handbuch der Physiol. von L. Hermann. Bd. V, p. 1—420.
—, **86.** Eine Abänderung der Färbung mit Hämatoxylin und chromsauren Salzen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 27.
—, **88.** Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Arch. f. d. ges. Physiol. Pflüger. 43. Bd. Suppl.
Heine, L, **95.** Die Mikrochemie der Mitose, zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 21. Bd.
Heineke, H., **05.** Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark nebst einigen Bemerkungen über die Röntgentherapie der Leukämie und Pseudoleukämie und des Sarkoms. Deutsche Zeitschrift für Chirurgie. 78. Bd.
Helly, K., **04.** Eine Modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 20.
Henle, J., **41.** Allgemeine Anatomie. Leipzig. 6. Bd. des Sömmeringschen Handbuches: »Vom Bau des menschlichen Körpers«.
—, **71.** Handbuch der systematischen Anat. des Menschen. Bd. 3, Abt. 2 (Vorrede).
Hensen, V., **76.** Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung des Kaninchens und Meerschweinchens. Zeitschr. f. Anat. und Entw. Bd. 1, p. 213 und 353.
Hermann, F., **93.** Technik. Methoden zum Studium des Archiplasmas und der Centrosomen tierischer und pflanzlicher Zellen. Ergeb. d. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 2, Abt. 2.
—, **94.** Notiz über die Anwendung des Formalins als Härtungs- und Konservierungsmittel. Anat. Anz. Bd. 9.
Hertwig, O., **83.** Die Entwicklung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. Jena.

Herxheimer, K., **89.** Über eigentümliche Fasern in der Epidermis und im Epithel gewisser Schleimhäute des Menschen. Arch. f. Dermat. u. Syphil. Bd. 21.

His, W., **61.** Untersuchungen über den Bau der Lymphdrüsen. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 11. Bd., 24 p., Taf. 8, 9.

—, **68.** Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig.

—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion und über deren Bedeutung für Anat. und Entwicklungsgesch. Anat. Anz. 2. Jahrg.

Hoehl, E., **97.** Zur Histologie des adenoiden Gewebes mit 2 Taf. Arch. f. Anat. und Physiol., Anat. Abt. 1897. p. 133—152.

Hörmann, K., **07, 08.** Über das Bindegewebe der weiblichen Geschlechtsorgane. Arch. f. Gynäkologie.

Holmgren, E., **99.** Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 388—397.

—, **01.** Beiträge zur Morphologie der Zelle. 1. Nervenzellen. Anat. Hefte, 1. Abt., Heft 59 (18. Bd. H. 2).

Holmgren, F., **74.** Methode zur Beobachtung des Kreislaufs in der Froschlunge. Beiträge zur Anat. und Physiol. Festgabe für Ludwig. Leipzig.

Hoppe, F., **06.** Zur Technik der Weigertschen Gliafärbung. Neurolog. Zentralbl. 25. Jahrg.

Hoppe-Seyler, F., und **Tierfelder,** H., **93.** Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 6. Aufl. Berlin.

Hoyer, H., **90.** Über den Nachweis des Muzins in Geweben mittels d. Färbemethode. Arch. Mikr. Anat. 36. Bd., p. 310—374.

Huber, G. C., **02.** Studies of the Neuroglia. The American Journ. of Anatomy. Vol. 1.

Huber, F. O., **03.** Über Formalingasfixierung und Eosinmethylenblaufärbung von Blutpräparaten. Charité-Annalen, 27. Bd.

Jackson, C. J., **04.** Zur Histologie und Histogenese des Knochenmarkes. Arch. f. Anat. und Entwickl.

Jagić, N., **06.** Über Azetonfixierung von Blutpräparaten. Wiener klin. Wochenschr. 19. Jahrg.

Jores, L., **07.** Über die feineren Vorgänge bei der Bildung und Wiederbildung d. elast. Bindegewebes. Zieglers Beitr. 41. Bd.

Joris, H., **04.** A propos d'une nouvelle méthode de coloration des neurofibrilles. Structure et rapports des cellules nerveuses. Bull. de l'acad. royale de médicine de Belg. 18. Bd.

Joseph, M., **05.** Dermatologische Technik. Berlin.

Kaes, Th., **91.** Die Anwendung der Woltersschen Methode auf die feinen Fasern der Hirnrinde. Neurologisches Zentralbl.

v. Kahlden, 95 und **98.** Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 4. Aufl. 1895 und 5. Aufl. 1898. Jena. G. Fischer.

Kaiserling, C., und **Germer** R., **93.** Über den Einfluß der gebräuchlichen Konservierungs- und Fixationsmethoden auf

die Größenverhältnisse tierischer Zellen. Virchows Archiv. Bd. 133, p. 79—104.

Kallius, E., **92.** Ein einfaches Verfahren, um Golgische Präparate für die Dauer zu fixieren. Anat. Hefte, 1. Abt., 5. Heft, p. 271—275.

Kann, H., **89.** Über das Epithel des Ureters. Inaug.-Diss. München. 26 p., 1 Taf.

Kastschenko, N., **86.** Methode zur genaueren Rekonstruktion kleinerer makroskopischer Gegenstände. Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt.

—, **87.** Die graphische Isolierung. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **88.** Über das Beschneiden mikroskopischer Objekte. Zeitschrift f. wiss. Mikr. Bd. 5.

Key, A., und **Retzius,** G., **82** Über die Anwendung der Gefrierungsmethode in der histologischen Technik. Biologische Untersuchungen, herausg. von G. Retzius.

S. auch: Om trysningsmetodens användande vid histologisk teknik. Nordisk Medicinsk Arkiv Bd. 6, 1874.

Klaatsch, H., **87.** Zur Färbung von Ossifikationspräparaten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

Klett, A., **07.** Zur Chemie der Weigertschen Elestinfärbung. Zeitschr. f. exper. Pathologie 2. Bd.

Koch, G. v., **78.** Über die Herstellung dünner Schliffe von solchen Objekten, welche aus Teilen von sehr verschiedener Konsistenz zusammengesetzt sind. Zool. Anz. 1. Jahrg. p. 36—37.

Kockel, 99. Eine neue Methode der Fibrinfärbung. Zentralbl. f Allg. und Pathol. Anat. X. Bd., p. 749—757.

Kölliker, A., **81.** Zur Kenntnis des Baues der Lunge des Menschen. Verh. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg, Bd. 16.

—, **86.** Der feinere Bau des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIV, p. 1—37.

—, **93.** Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. 2, 1. Hälfte. Leipzig.

Kolossow, A., **92.** Über eine neue Methode der Bearbeitung der Gewebe mit Osmiumsäure. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 9.

—, **98.** Eine Untersuchungsmethode des Epithelgewebes, besonders der Drüsenepithelien, und die erhaltenen Resultate. Mit 3 Taf. Arch. f. mikrosk. Anat. 52. Bd.

Kopsch, Fr., **96.** Erfahrungen über die Verwendung des Formaldehyds bei der Chromsilber-Imprägnation. Anat. Anz. XI. Bd., p. 727.

—, Fr., **98.** Die Entwicklung der äußeren Form des Forellen-Embryos. Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwicklungsgesch. 51. Bd. p. 181—213, T. X. u. XI.

—, **02.** Die Darstellung des Binnennetzes Golgi in spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitz.-Ber. K. preuß. Akad. Wiss. Berlin. Bd. 39.

—, **04.** Über den Kern der Thrombocyten und über einige Methoden, zur Einführung in das Studium der Säugetier-

Thrombocyten. Internationale Monatschr. f. Anat. und Physiol. 21. Bd.

Kopsch, Fr., **06.** Kleine Mitteilungen z. mikrospokisch. Technik. Internat. Monatschr. f. Anat. und Physiol. 23. Bd.

Korff, K., **07.** Die Analogie in der Entwicklung der Knochen-Zahnbeingrundsubstanz der Säugetiere, nebst kritischen Bemerkungen über Osteoblasten und Odontoblastentheorie. Arch. mikr. Anatomie. 69. Bd.

Kostanecki, K., und **Siedlecki**, M., **97.** Über das Verhältnis der Zentrosomen zum Protoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 48.

Krause, C., **44.** Artikel Haut in: Handwörterb. d. Physiol., herausg. von R. Wagner. 2. Bd. Braunschweig.

Krause, R., **93.** Beiträge zur Histologie der Wirbeltierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42, p. 53—82.

Krause, W., **84.** Untersuchungsmethoden. Internation. Monatsschrift f. Anat. und Histol. Bd. 1.

Krönig, 86. Einschlußkitt für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. 27. Bd., p. 657—658.

Kromayer, E., **92.** Die Protoplasmafaserung der Epithelzelle. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 39.

Kronthal, P., **99.** Eine neue Färbung für das Nervensystem. Neurolog. Zentralblatt Nr. 5, p. 196—203.

Krysinski, S., **87.** Beiträge zur histologischen Technik. Virchows Arch. Bd. 108, p. 217—219.

Krzystariowicz, F., **00.** Inwieweit vermögen alle bisher angegebenen spezifischen Färbungen des Elestins auch Elacin zu färben? Monatsh. für prakt. Dermatologie. 30. Bd.

Kühne, W., **62.** Über die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig.

—, **86.** Neue Untersuchungen über die motorische Nervenendigung. Zeitschr. f. Biol. München. Bd. 23.

Kühne, W., und **Chittenden**, R. H., **89.** Über das Neurokeratin. Zeitschr. f. Biologie. 26. Bd.

Kühne, W., und **Lea**, A. Sch., **74.** Über die Absonderung des Pankreas. Verh. d. Naturhist. Ver. Heidelberg. (N. F.) Bd. 1.

Kultschizky, N., **87a.** Zur histologischen Technik. II. Zelloidin-Paraffin-Einbettung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und f. mikr. T. Bd. IV, p. 48—49.

—, **87b.** Zur Kenntnis der modernen Fixierungs- und Konservierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

—, **90.** Über Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Zentralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. Anat. Anz. Jahrg. 5.

Kupffer, C., **76.** Über Sternzellen der Leber. Arch. mikr. Anat. 12. Bd., p. 353—358.

—, **83,** 2. Über den »Achsenzylinder« markhaltiger Nervenfasern. Sitz.-Ber. Akad. München. 13. Bd., p. 466—475, 1 Taf.

Kupffer, 89. Über den Nachweis der Gallenkapillaren und spezifischer Fasern in den Leberläppchen durch Färbung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. Phys. München. 5. Bd., p. 82—86.

—, **99.** Über die sog. Sternzellen der Säugetierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54, H. 2, p. 254—288, mit 3 Taf.

Kupffer und **Benecke, 78.** Der Vorgang der Befruchtung am Ei der Neunaugen.

Lakhart, Clarke, **57.** Researches into the structure of the spinal chord. Philos. Trans. of the Royal Soc. of London, Part. 2.

Lang, Arnold, **78.** Konservation der Planarien. Zool. Anz. 1. Jahrg.

Langendorff, O., **89.** Beiträge zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt., Suppl. p. 219—242, T. 5.

Langerhans, P., **73.** Untersuchungen über Petromyzon Planeri. Freiburg i. Br.

Leber, T., **68.** Zur Kenntnis der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe. Arch. f. Ophthalmologie. Bd. 14.

Lebhardt, Alfr., **06.** Das Verhalten der Nerven in der Substanz des Uterus. Arch. f. Gynäkol., 80. Bd.

Ledermann und **Blanck, 02.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Ein Rückblick auf die Jahre 1895—1900. Dermatolog. Zeitschrift und Separat, Berlin.

Ledermann, R., und **Ratkowski, 94.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Wien und Leipzig. W. Braumüller.

Lee, A. B., und **Mayer,** P., **07.** Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen. Berlin. 3. Aufl.

Lenhossék, M. v., **95.** Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuerer Forschungen. Berlin. 2. Aufl.

—, **98.** Bemerkungen über den Bau der Spinalganglienzellen. Neurol. Zentralblatt. Jahrg. 17, p. 577—593.

—, **04.** Ergänzungsheft z. 25. Bd. des Anat. Anzeigers, S. 183.

Lepkowsky, W., **92.** Beitrag zur Histologie des Dentins mit Angabe einer neuen Methode. Anat. Anz. Bd. 7.

Levi, G., **04.** Il fluoruro di sodio nella tecnica istologica. Monitore zoologico italiano. Anno 15.

—, **04a.** Ricerche comparative sul volume delle cellule. Renic. dell Accad. medicofisica florentine.

Lindemann, W., **04.** Resorption der Niere. Zieglers Beiträge. 37. Bd.

Löwit, 75. Die Nerven der glatten Muskulatur. Wiener Sitz.-Ber. Bd. 71.

Lissauer, H., **84.** Über Veränderungen der Clarkeschen Säulen bei Tabes Dorsalis. Fortschritte der Medizin. 2. Bd.

London, B., **81.** Das Blasenepithel bei verschiedenen Füllungszuständen der Blase. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt. p. 317—330.

London, E. S., **05.** Zur Lehre von dem feineren Bau des Nervensystems. Arch. f. Mikr. Anat. 63. Bd.

Lubosch, W., **01.** Einige Mitteilungen über Vorkommen, Fang und Zucht der Neunaugen. Z. f. Fischerei u. deren Hilfswissenschaften. 9. Bd.

Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern, **84.** Über Endorgane der sensiblen Nerven in der Zunge der Spechte. Münchener akad. Sitz.-Ber.

Lugaro, E., **05.** Sulla tecnica del metodo di Nissl. Monitore zool. ital. Anno 16.

Lundvall, H., **04.** Über Demonstration embryonaler Knorpelskelette. Anat Anz. Bd. 25.

Maas, Otto, **99.** Verlauf und Schichtenbau des Darmkanals von Myxine glutinosa L. Mit 3 Taf. Festschr. zum 70 Geburtstage v. Kupffers. p. 197—219.

Mall, F., **91.** Das reticulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen Abh. Math. Physik. Class. Sächs. Ges. Wiss. 17. Bd., p. 299—338.

—, **96.** Reticulated tissue, and its relation to the connective tissue fibrils. From the Johns Hopkins Hospital Reports. Vol. I. Baltimore.

Mallory, F. B., **91.** Phospho-molybdic Acid Haematoxylon. Anat. Anz. Jahrgg. 16.

—, **00.** A contribution to staining methods Journ. Exper. Med. Vol. 5. Referiert in: Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 18.

Marchi et **Alghieri, 85.** Sulla degenerazioni discendenti consecutivi a lesioni della corteccia cerebrale. Rivista sperimentale di frenatria. Vol. XI.

Maresch, R., **05.** Über Gitterfasern der Leber und die Verwendbarkeit der Methode Bielschowskys zur Darstellung feinster Bindegewebsfibrillen. Centralbl. f. allg. Path. und pathol. Anat. 16. Bd.

Maximoff, A., **02.** Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Zieglers Beiträge. 5. Band.

—, **06.** Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. für mikr. Anat. 67. Bd.

May, R., **06.** Eine neue Methode der Romanowsky-Färbung. Münch. Med. Wochenschr.

May, R. und **Grünwald,** L., **02.** Über Blutfärbung. Zentralbl. f. innere Medizin, Jahrg. 23. Refer. in: Münch. Medizin. Wochenschr. 02.

Mayer, P., **81.** Über die in der Zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 2, p. 1—27.

—, **83.** Einfache Methode zum Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 2, p. 521—522.

—, **87.** Aus der Mikrotomtechnik. Internat. Monatsschr. für Anat. und Physiol. Bd. 4.

Mayer, 91. Über das Färben mit Hämatoxylin. Mitt. Zool. Station zu Neapel 10. Bd., p. 170—186.
—, **92.** Über das Färben mit Karmin, Kochenille und Hämatein-Tonerde. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 10.
—, **96.** Über Schleimfärbung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 12.
—, **04.** Notiz über Hämatein und Hämalaun. Zeitschr. für wissenschaftl. Mikrosk. Bd. 20.
—, **07.** Siehe **Lee,** A. B., und **Mayer,** P.
—, **08.** Zur Bleichtechnik. Z. f. wiss. Mikr., Bd. 24.
Menwood, Marvez, **06.** Experimental Lymphocytosis. Journ. of Physiology.
Mercier, A., **94.** Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 11.
Merkel, F., **70.** Über die Macula lutea des Menschen und die Ora serrata einiger Wirbeltiere. Leipzig.
—, **77.** Eine neue Methode für Untersuchung des Zentralnervensystems. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.
—, **83.** Die Speichelröhren. Rektoratsprogramm Rostock. p. IV und 1—28, 2 Taf. Leipzig.
Metzner, R., **07.** Die histologischen Veränderungen der Drüsen bei ihrer Tätigkeit. Handbuch der Physiologie von Nagel. II. Bd. 2. Abt.
Meves, Fr., **04.** Hünefeld-Hensensche Bilder der roten Blutkörperchen der Amphibien. Anat. Anz. Bd. 24.
—, **03.** Artikel »Flemmingsche Flüssigkeit«, »Flemmingsche Dreifachfärbung« in Enzyklopädie d. mikr. Technik.
Meves Fr. und **Duesberg** Jules, **08.** Die Stermatozytenteilungen bei der Hornisse. Arch. mikr. Anat. Bd. 71.
Meyer, Erich, **06.** Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens. Ergebnisse der Physiol., 5. Jahrgang (Ascher-Spiro).
Meyer, E. und **Rieder,** H., **07.** Atlas der klinischen Mikroskopie des Blutes. Leipzig.
Meyer, S., **95.** Die subkutane Methylenblauinjektion, ein Mittel zur Darstellung der Elemente des Zentralnervensystems vom Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.
—, **96.** Über eine Verbindungsweise der Neuronen. Nebst Mitteilungen über die Technik und die Erfolge der Methode der subkutanen Methylenblauinjektion. Arch. f. mikr. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 47, p. 734—748. Mit 1 Taf.
Michaelis, H., **03.** Methode, Paraffinschnitte aufzukleben. Zentralbl. f. allg. Pathol. und pathol. Anat. Bd. 14.
Michotte, A., **04.** Contribution à l'étude de l'histologie fine de la cellule nerveuse. Bull. de l'acad. royale de méd. de Belgique, Tome 18.
Michaelis, L., **02.** Einführung in die Farbstoffchemie. Berlin.
Minot, Ch. S., **97.** On two forms of automatic microtomes. Science. N. S., vol. V, p. 857 ff.

Mönkeberg und **Bethe 99.** Die Degeneration der markhaltigen Nervenfaser der Wirbeltiere unter hauptsächlicher Berücksichtigung der Primitivfibrillen Arch. f. mikr. Anat. 54. Bd.

Moleschott, Jak, **59.** Ein Beitrag zur Kenntnis der glatten Muskeln. Untersuchungen zur Naturlehre d. Menschen und d. Tiere. Bd. 6.

Moleschott, J., **Piso-Borme,** G., **63.** Über das Vorkommen gabelförmiger Teilungen an glatten Muskelfasern. Untersuch. zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 9.

Müller Albert, **07.** Wie ändern die von glatter Muskulatur umschlossenen Hohlorgane ihre Größe? Pflügers Arch. 116. Bd.

Müller, Erik, **92.** Zur Kenntnis der Labdrüsen der Magenschleimhaut. Verhandlungen d. Biol. Vereins in Stockholm. Bd. 4, Nr. 8.

—, **95.** Über Sekretkapillaren. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 45, H. 3, p. 463—474.

Müller, H., **59.** Anatomische Untersuchung eines Mikrophthalmus. Verhandl. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg.

Auch in: Heinrich Müllers Gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges. 1. Bd. Gedrucktes. Zusammengestellt und herausgeg. von Otto Becker, S. 381.

Müller, H. F., **92.** Die Methoden der Blutuntersuchung. Zusammenfassendes Referat. Zentralbl. Allg. Path. Path. Anat. Bd. 3, p. 801—820, 851—872.

Nabias, de, **04.** Nouvelle méthode de coloration rapide du système nerveux au chlorure d'or. Bibliogr. anatom. Bd. 13.

Nägeli, Otto, **07.** Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Lehrbuch der morphologischen Hämatologie. 1. Hälfte. Leipzig.

Neelsen und **Schiefferdecker,** P., **82.** Beitrag zur Verwendung der ätherischen Öle in der histologischen Technik. Arch. f. Anat. und Phys. Anat. Abt.

Negro C., **87.** Sur les terminaisons nerveuses motrices. Arch. ital. de biol. T. 9.

Neuhauss, R., **98.** Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschw. H. Bruhn. 2. Aufl.

Nißl, Fr., **94a.** Über die sog. Granula der Nervenzellen. Neurolog. Zentralbl. Nr. 19, 21, 22.

—, F., **94b.** Mitteil. über Karyokinese im zentralen Nervensystem, Bericht über die 25. Versammlung des Südwestdeutschen psychiatrischen Vereins in Karlsruhe am 11. und 12. Nov. 1893. In: Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychisch-gerichtliche Medizin. 51. Bd., p. 245—247.

—, **95.** Der gegenwärtige Stand der Nervenzellenanatomie und -Pathologie. Zeitschr. f. Psychiatrie. Bd. 51.

—, **03.** Artikel »Nervensystem« in der Enzyklopädie der mikr. Technik.

Noll, A. und **Sokoloff,** A., **05.** Zur Histologie der ruhenden und tätigen Fundusdrüsen des Magens. Arch. f. Anat. und Physiol. Physiolog. Abt.

Novak, K., **02.** Neue Untersuchungen über die Bildung der beiden primären Keimblätter und die Entstehung des Primitivstreifens beim Hühnerembryo. Berlin. Diss.

Nuel, J. P., et **Cornil,** F., **90.** De l'endothelium de la chambre antérieure de l'oeil, particulièrement de celui de la cornée. Archives de Biologie. T. 10.

Obersteiner, H., **01.** Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Zentralorgane im gesunden und kranken Zustande. 4. Aufl. Leipzig und Wien.

Obregia, A., **90.** Serienschnitte mit Photoxylin oder Celloidin. Neurologisches Zentralbl. Bd. 9.

Olt, 06. Das Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. 23. Bd.

Oppel, A., **90.** Eine Methode zur Darstellung feinerer Strukturverhältnisse der Leber. Anat. Anz., 5. Jahrg., p. 143—145.

—, **91.** Über Gitterfasern der menschlichen Leber und Milz. Anat. Anz., 6. Jahrg., p. 165—173, 4 Fig.

Orsós, F., **06.** Ein neues Paraffinschneideverfahren. Centralbl. für allg. Path. und pathol. Anat. 17. Bd.

—, **07.** Über das elastische Gerüst der normalen und der emphysematösen Lunge. Zieglers Beiträge, 41. Bd.

Pacini, F., **80.** Sur quelques méthodes de préparation et de conservation des éléments microscopiques. Journ. de Micrographie, 4. année.

Pal, J., **86.** Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Med. Jahrb. Wien. p. 619—631.

Pasini, 05. Über eine neue und einfache Methode zur Demonstration der Epithelfasern in der Haut. Monatshefte für prakt. Dermatologie. 40. Bd.

Peiser, J., **05.** Über kadaveröse Veränderungen. Centralbl. f. allg. Path. und pathol. Anat. 16. Bd.

Perényi, J., **82.** Über eine neue Erhärtungsflüssigkeit. Zool. Anz. 5. Jahrg.

Peter, K., **99.** Demonstration des Born-Peterschen Verfahrens zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien usf. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Tüb. 21./24. V. 1899.

—, **03.** Artikel »Plastische Rekonstruktion« in der Encyklopädie der Mikr. Technik.

—, **04.** Eine neue Dotterfärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 21.

—, **06.** Die Methoden der Rekonstruktion. Jena.

Petersen, W., **02.** Zur Anwendung der plastischen Rekonstruktionsmethoden in der pathologischen Anatomie. Centralbl. f. allg. Path. und patholog. Anatomie. 13. Bd.

Petri, R. J., **96.** Das Mikroskop. Von seinen Anfängen bis zur jetzigen Vervollkommnung. Berlin. R. Schoetz. 248 p., 191 Abb. im Text.

Pfitzner, W., **80.** Die Epidermis der Amphibien. Morph. Jahrb. Bd. 6.

—, **82.** Über den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkernes. Morph. Jahrb. 7. Bd.

Pighini, G., **05.** Sur l'origine et la formation des cellules nerveuses chez les embryons de sélaciens. Bibliogr. Anat. Tome 14.

Plehn, F., **90.** Äthiologische und klinische Malaria-Studien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8. S. 359 (H. F. Müllers Blutreferat p. 809).

Pleuge, H., **96.** Härtung mit Formaldehyd und Anfertigung von Gefrierschnitten, eine für die Schnelldiagnose äußerst brauchbare Methode. Münchener mediz. Wochenschr. Nr. 4.

Podwissotzki, **87.** Über die Beziehungen der quergestreiften Muskeln zum Papillarteil der Lippenhaut. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30, p. 327, T. 17.

Policard et **Garnier**, M., **05.** Altérations cadavériques des épithéliums renaux. C. R. hebdomad. d. S. d. l. s. de Biologie.

Politzer, A., **89.** Die anatomische und histologische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans im normalen und kranken Zustande. Stuttgart.

Pollack, B., **98.** Die Färbetechnik des Nervensystems. 2. Aufl. Berlin (IV, 172 p).

Popoff, Methodi, **07.** Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. mikr. Anat. 70. Bd.

Poscharissky, J., **07.** Über die histologischen Vorgänge an den peripherischen Nerven nach Kontinuitätstrennung. Zieglers Beiträge. 41. Bd.

Pranther, V., **02.** Zur Färbung der elastischen Fasern. Centralbl. f. allg. und path. Anat. 13. Bd.

Pray, A., **03.** On a method of preparing the membranous Labyrinth. Journ. of Anat. and Physiol. Vol. 38.

Prudden, J. M., **85.** Fragekasten. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 2.

Rabl, C., **85.** Über Zellteilung. Morph. Jahrb. 10. Bd., p. 214 bis 330, T. 7—13.

—, **94.** Einiges über Methoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XI.

—, **00.** Über den Bau und Entwicklung der Linse. Leipzig.

Rabl, H., **91.** Die Entwicklung und Struktur der Nebennieren bei den Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

Ranke, H., **67.** Studien zur Wirkung des Chloroforms, Äther und Amylens. Centralbl. für med. Wiss.

Ranvier, **68.** Technique microscopique. Journal de l'Anat.

—, **75.** Des préparations du tissu osseux avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcohol. Travaux Lab. Histol. p. 16—21.

Ranvier, 78. Leçons sur l'histologie du système nerveux. Bd. 1, p. III und 1—352. 4 Taf. 20 Fig. und Bd. 2, 380 p., 8 Taf.
—, **80.** Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire. p. 1—466, 99 Fig. Paris.
—, **81.** Leçons d'anatomie générale. Terminaisons nerveuses sensitives Cornée. p. XX, 447, 54 Fig. Paris.
—, **85.** Le foie. Journal de Micrographie.
—, **89.** Traité technique d'histologie. Paris, 2 éd.
—, **91.** Transformation in vitro des cellules lymphatiques en clasmatocytes. Journal de Micrographie. Tome 15.
Vom Rath, O., **95.** Zur Konservierungstechnik. Anat. Anz. 11. Bd., p. 280—288.
Rauber, A., **76.** Über die Stellung des Hühnchens im Entwicklungsplan. Engelmann.
Rawitz, B, **95a.** Die Verwendung der Alizarine und Alizarincyanine in der histologischen Technik. Anat. Anz. Bd. 11.
—, **95b.** Über eine Modifikation in der substantiven Verwendung des Hämateins. Anat. Anz. Bd. XI, p. 301—303.
Regaud, Cl. et **Dubreuil,** G., **03.** Sur un nouveau procédé d'argentation des épithéliums au moyen de protargol. Bibliothèque Anatomique. Suppl., C. R. de l'Assoc. des Anat.
Rehm, 92. Einige neue Färbungsmethoden zur Untersuchung des zentralen Nervensystems. Münchener mediz. Wochenschrift, Jahrg. 39.
Reich, F, **07.** Über den zelligen Aufbau der Nervenfaser auf Grund mikrohistiochemischer Untersuchungen. I. Teil. Die chemischen Bestandteile des Nervenmarks, ihr mikroskopisches und färberisches Verhalten. Journ. f. Psychol. und Neurologie. 8. Bd.
Reichert, K. B., **49a.** Die glatten Muskelfasern in den Blutgefäßwandungen. Müllers Archiv.
Auch: Observationes microchemicae circa nonnullas animalium telas. Dorpati, 1848, Paulsen.
—, **49b.** Beobachtungen über eine eiweißartige Substanz in Kristallform. Müllers Arch., Jahrg. 1849.
Reinke, Fr., **93.** Über einige Versuche mit Lysol an frischen Geweben zur Darstellung histologischer Feinheiten. Anat. Anz. p. 18—19.
—, **95.** Die japanische Methode zum Aufkleben von Paraffinschnitten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 12.
Renaut, J., **97** u. **99.** Traité d'histologie pratique. Tome II, fasc. 1. Paris 1897. Tome II, fasc. 2. Paris 1899.
Retzius, G., **84.** Das Gehörorgan der Wirbeltiere. 2. Bd. (Reptilien, Vögel und Säuger.) Stockholm.
Rieder H., s. **Meyer.**
Riese, H., **91.** Über die Technik der Golgischen Schwarzfärbung durch Silbersalze etc. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. II. Bd., p. 497—519.

Röse, C., **92.** Über die v. Kochsche Versteinerungsmethode. Anat. Anz. VII. Jahrg., p. 512—519.
—, **93.** Über die Zahnentwicklung der Krokodile. Morpholog. Arb. von G. Schwalbe. III. Bd., 2. H., p. 195—228.
Röthig, P., **00.** Über einen neuen Farbstoff namens »Kresofuchsin.« Arch. für mikr. Anat. 56. Bd.
—, **04.** Handbuch der embryologischen Technik. Wiesbaden.
Rollett, A., **58.** Untersuchungen über die Struktur des Bindegewebes. Sitz.-Ber. d. math.-naturw. Klasse d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. XXX. Bd.
—, **71.** Von den Bindesubstanzen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.
—, **72.** Über die Hornhaut. Handbuch der Lehre von den Geweben. Herausg. von Stricker.
—, **85.** Untersuchungen über den Bau der quergestreiften Muskelfasern. Denkschr. Akad. Wien, math.-naturw. Kl. Bd. 49, Abt. 1, p. 81—132 und Bd. 51, Abt. 1, p 23—68.
—, **89.** Anatomische und physiologische Bemerkungen über die Muskeln der Fledermäuse in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. 98. Bd. 3. Abt. math.-nat. Kl. p. 169—183, 4 Taf.
Rosenthal, Werner, **00.** Über den Nachweis von Fett durch Färbung. Verhandl. d. deutsch. pathol. Gesellsch. in Verhandl. d. Gesellsch. deutscher Naturf. u. Ärzte. 71. Versammlung, München, 1899.
Rosin und **Bibergeil**, Eugen, **04.** Das Verhalten der Leukozyten bei der vitalen Blutfärbung. Virch. Arch. 178. Bd.
Roth, A., **04.** Zur Kenntnis der Bewegung der Spermien. Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt.
Rubaschkin, W., **04.** Studien über Neuroglia. Arch. f. mikr. Anat. 64. Bd.
—, **07.** Eine neue Methode zur Herstellung von Zelloidinserien. Anat. Anz. 31. Bd.
Rückert, J., **92.** Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. Anat. Anz. 7. Jahrg.
Sauer, H., **95.** Neue Untersuchungen über das Nierenepithel und sein Verhalten bei der Harnabsonderung. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. 46.
Schaffer, J., **88.** Die Färberei zum Studium der Knochenentwicklung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.
—, **93.** Die Methode der histologischen Untersuchung des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.
—, **96.** Mikrotechnisches Histologisches. Geschichte des Mikroskops. Wien. Klin. Wochenschr. Jahrg. 1896, Nr. 45.
—, **99.** Zur Kenntnis der glatten Muskelzellen, insbesondere ihrer Verbindung. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 66, p. 214—268.
—, **03.** Artikel »Knochen und Zähne« in der Enzyklopädie der mikr. Technik.

Schaffer, 06. Über den feineren Bau und die Entwicklung des Knorpelgewebes und über verwandte Formen der Stützsubstanzen. II. Teil. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 80. Bd.

Schiefferdecker, P. 82. Über die Verwendung des Zelloidins in der anatomischen Technik. Arch. Anat. u. Phys., Anat. Abt.

—, **86.** Methode zur Isolierung von Epithelzellen. Jahrb. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

Schleif, K., 07. Atlas der Blutkrankheiten nebst einer Technik der Blutuntersuchung. Wien.

Schmaus, H., 91. Technische Notizen zur Färbung der Achsenzylinder. Münchener mediz. Wochenschr.

Schmidt, Gustav, 06. Über die Resorption von Methylenblau durch das Darmepithel. Pflügers Arch. 113. Bd.

Schmidt, Johannes, 05. Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie einiger Zellarten der Schleimhaut des menschlichen Darmkanals. Arch. f. mikr. Anat. 66. Bd.

Schmorl, G., 01. Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden, 2. Aufl. Leipzig.

Schneider, A., 80. Über Befruchtung. Zoolog. Anz.

Schridde, H., 05. Die Darstellung der Leukozytenkörnelungen im Gewebe. Centralbl. f. allg. Path. und path. Anat. 16. Bd.

—, **05a.** Die Protoplasmaformen der menschlichen Haut. Arch. f. mikr. Anat. 67 Bd.

—, **05b.** Beiträge zur Lehre von den Zellkörnelungen. Die Körnelungen der Plasmazellen. Anat. Hefte. 28. Bd.

—, **07.** Die Entwickelungsgeschichte des menschlichen Speichelröhrenepithels. Wiesbaden.

— und **Fricke, A., 06.** Über gleichzeitige Fixierung und Durchfärbung von Gewebsstücken. Centralbl. für allg. Path. und patholog. Anat. 17. Bd.

Schuberg, A., 03. Untersuchungen über Zellverbindungen. Zeitschrift f. wiss. Zool. Bd. 74.

Schueninoff, S., 08. Eine Fibrintinktionsmethode. Centralbl. f. allg. Path. und path. Anat. 19. Bd.

Schultze, M., 64. Die Anwendung mit Jod konservierter tierischer Flüssigkeiten als mazerierendes und konservierendes Mittel bei histologischen Untersuchungen. Virchows Arch. Bd. 30, p. 263—265.

—, **65.** Ein heizbarer Objekttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

—, **71.** Essigsaures Kali zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7.

— und **Rudneff, M., 65.** Weitere Mitteilungen über die Einwirkung der Überosmiumsäure auf tierische Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

Schultze, O., 87. Untersuchungen über Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 45.

Schultze, O., **97.** Grundriß der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Säugetiere. Leipzig.

—, **99.** Über das erste Auftreten der bilateralen Symmetrie im Verlauf der Entwicklung. Arch. f. Anat. und Entwicklungsgesch. 55. Bd., p. 171—230 mit T. XI und XII und 2 Textfig.

— **04.** Über Stückfärbung mit Chromhämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 21.

—, **06.** Über den frühesten Nachweis der Markscheidenfärbung im Nervengewebe. S.-Ber. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg.

—, **07.** Über den Bau und die Bedeutung der Außencuticula der Amphibienlarven. Arch. mikr. Anat. und Entwicklungsgeschichte. 69. Bd.

Schulze, F. E., **67.** Eine neue Methode der Erhärtung und Färbung. Centralbl. f. med. Wiss.

—, **71.** Die Lungen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

Schwalbe, E., **00.** Untersuchungen zur Blutgerinnung. Braunschweig.

—, **01.** Technische Bemerkungen zur Karminfärbung des Zentralnervensystems. Zentralbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat. Bd. 12.

Schweigger-Seidel, F., **65.** Die Nieren des Menschen und der Säugetiere in ihrem feineren Baue. p. 1—92, 4. Taf. Halle.

Seligmann, S., **99.** Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges.

Sitten, A. E., **05.** Erfahrungen über Azeton-Paraffin-Einbettung. Zentralbl. f. allg. Path. und path. Anat. 16. Bd.

Sjövall, E., **05.** Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. Zugleich ein Versuch, die Wirkungsweise der Osmiumsäure zu analysieren. Anat. Hefte. 91. Heft.

Sobotta, E., **95.** Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45, p. 15—93.

Solger, B., **83.** Über die Einwirkung des Wasserstoffhyperoxydes auf tierische Gewebe. Zentralbl. f. d. med. Wiss.

—, **89a.** Kohlensaurer Ammoniak, ein Mittel zur Darstellung des Sarkolemmas. Zeitschr. f wiss. Mikr. Bd. 6.

—, **89b.** Zur Struktur der Pigmentzelle. Zool. Anz. 12 Jahrg.

—, **93.** Zur Kenntnis osmierten Fettes. Anat. Anz. Bd. 8.

—, **96.** Über den feineren Bau der Glandula submaxillaris des Menschen, mit besonderer Berücksichtigung der Drüsengranula. 2 Taf. Festschr. z. 70. Geburtstag von Gegenbaur. Bd. 2, p. 179—248.

Spalteholz, W., **04.** Mikroskopie und Mikrochemie. Leipzig.

—, **03.** Artikel »Verdauung, künstliche, als histologische Methode« in Encyklopädie d. mikrosk. Technik.

Spee, Graf F., **85.** Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern. Zeitschr. f wiss. Mikr. und für mikroskop. Techn. Braunschweig. Bd. 2.
—, **87.** Über die ersten Vorgänge der Ablagerung des Zahnschmelzes. Anat. Anz. 2. Jahrg.
Spuler, A., **01.** Über eine neue Stückfärbemethode. Deutsche med. Wochenschr. Bd. 27.
—, **03.** Artikel Sublimat. Enzykl. d. mikrosk. Technik.
Srdinko, O. V., **05.** Eine sichere Methode zur Differenzierung der Rinden- und Markelemente in der Nebenniere. Anat. Anz. 26. Bd.
Stern, S., **05.** Über Sehpurpurfixation. Arch. für Ophthalmol. 61. Bd.
Stinde, J., **88.** Frau Buchholz im Orient. Berlin.
Stintzing, R., **99.** Zur Struktur der Magenschleimhaut. Festschrift für v. Kupffer. p. 53—56.
Stöhr, Ph, **94** und **98.** Lehrbuch der Histologie. 6. Aufl. 1894. und 8. Aufl. 1898. Jena. G. Fischer.
Stöltzner, 05. Über Metallfarben im verkalkten Gewebe Virchows Arch. Bd. 180.
Stöltzner, Helene, **06.** Der Einfluß der Fixierung auf das Volumen der Organe. Z. f. wiss. Mikr. 23. Bd.
Stoß, A., **91.** Konstruktion eines Kühlmessers. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.
Strasburger, E, **05.** Histologische Beiträge zur Vererbungsfrage. Jahrbücher f. wiss. Botanik, 42. Bd.
Strasser, H., **86.** Über das Studium der Schnittserien und über die Hilfsmittel, welche die Rekonstruktion der zerlegten Form erleichtern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.
—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.
Streeter, G. L., **03.** Über die Verwendung der Paraffineinbettung bei Markscheidenfärbung. Arch. f. mikr. Anat. 62. Bd.
Strelzoff, Z., **73.** Über die Histogenese der Knochen. Unters. a. d. pathol. Institut Zürich. Leipzig.
Ströbe, H., **93.** Zur Technik der Achsenzylinderfärbung im zentralen und peripheren Nervensystem. Zentralbl f. allgem. Path. u. path. Anat. IV. p. 49—57.
Studnicka, F. K., **06.** Über die Anwendung von Bielschowsky zur Imprägnation von Bindegewebsfibrillen im Knochen, Dentin- und Hyalinknorpel. Z. f. wiss. Mikroskopie. 23. Bd.
Tandler, J., **01.** Mikroskopische Injektionen mit kaltflüssiger Gelatine. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 18.
Tappeiner, H., **90** und **99.** Lehrbuch der Arzneimittellehre und Arzneiverordnungslehre. Leipzig 1890, 3. Aufl. 1899.
Tartakowsky, S., **03.** Die Resorptionsvorgänge des Eisens beim Kaninchen. Pflügers Arch., 100. Bd.

Teichmann, L. K., **53.** Über Kristallisation der organischen Bestandteile des Blutes. Zeitschr. f. rationelle Medizin. Bd. 3.
Teljatnik, T., **97.** Zur Technik der Marchischen Färbung des Zentralnervensystems. Neurolog. Zentralbl. Nr. 11. p. 521.
Tellyesniczky, K. von, **98.** Über die Fixierungs-(Härtungs-)Flüssigkeiten. Arch. f. mikr. Anat. 52. Bd. p. 202—247. T. 52.
—, **02.** Fixation im Lichte neuerer Forschungen. Ergebnisse der Anat. und Entwicklungsgeschichte von Merkel und Bonnet. Bd. 11.
—, **02 a.** Zur Kritik der Kernstrukturen. Arch. f. mikr. Anat. und Entwicklungsgesch. 60. Bd.
—. **04.** Aufkleben der Zelloidinschnitte. Anat Anz. Ergänzungsheft zum 25. Heft.
—, **05.** Ruhekern und Mitose. Arch. für mikr. Anat. 66. Bd.
v. Thanhoffer, 77. Über die Entzündung nebst einigen Bemerkungen über die Struktur der Hornhaut und über die Eosin-Reaktion. Zentralbl. d. med. Wiss.
Thies, Anton, **05** Wirkung der Radiumstrahlen auf verschiedene Gewebe und Organe. Mitteil. aus d. Grenzgebieten der Med. und Chir. 14. Bd.
Thoma, R, **91.** Eine Entkalkungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 8. Bd., p. 191—192.
Tillmanns, H., **74.** Beiträge zur Histologie der Gelenke. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10.
Unna, P. G., **91.** Notiz, betreffend die Tänzersche Orzeinfärbung des elastischen Gewebes. Monatshefte f. prakt. Dermatolog. XII. Bd., p. 394—396.
—, **98.** Der Nachweis des Fettes in der Haut durch sekundäre Osmierung. Monatshefte f. prakt. Dermatologie. Bd. XXVI, p. 601—613, 2 T.
—, **05.** Die Darstellung der sauren Kerne im normalen und pathologischen Gewebe. Monatsh. für praktische Dermatol. 41. Bd.
Virchow, R., **47.** Die pathologischen Pigmente. Virch. Arch. Bd. 1.
—, **50.** Einige neue Beobachtungen über Knochen- u. Knorpelkörperchen. Verh. d. physik.-med. Ges. Würzburg. Bd. 1, p. 192—197.
Waldeyer, W., **82.** Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, insbesondere der Haare und Federn. Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe f. J. Henle. Bonn.
Wallart, J., **06.** Über gleichzeitige Darstellung von Fettkörnern, eisenhaltigem Pigment und Zellkernen in Gefrierschnitten. Münch. med. Wochenschrift, 45.
Warnke, 04. Zur Darstellung der Axenzylinderfibrillen in den markhaltigen Fasern des Zentralnervensystems. Arch. f. Psych. und Nervenkrankheiten. 38. Bd.
Weidenreich, 06. Weitere Mitteilungen über rote Blutkörperchen. Arch. f. mikr. Anat. 69. Bd.

Weigert, C., **78.** Bismarckbraun als Färbemittel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 15.
—, **81.** Zur Technik der mikroskop. Bakterienuntersuchungen. Virchows Archiv. Bd. 84.
—, **85.** Über Schnittserien von Zelloidinpräparaten des Zentralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Zeitschrift f. wiss. Mikr. Bd. 2, p. 490—495.
—, **91.** Zur Markscheidenfärbung. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 42, 9 p.
—, **94.** Technik. Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungsgeschichte. Bd. 3.
—, **95.** Beiträge zur Kenntnis der normalen menschl. Neuroglia. Festschr. zum fünfzigjähr. Jubiläum des ärztl. Ver. zu Frankfurt a. M.
—, **96.** Die Golgische Methode. Forts. von **94.** Ebenda Bd. 5.
—, **97.** Die Markscheidenfärbung. Ebenda Bd. 6.
—, **98.** Die Marchische Methode. Ebenda Bd. 7.
—, **98.** Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. Zentralbl. f. allg. Path. Bd. 9, p. 289—292.
—, **04.** Eine kleine Verbesserung der Hämatoxylin-van Gieson-Methode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 21.
Weismann, A., **61.** Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosche. Zeitschr. f. ration. Med. 3. Reihe. Bd. 10, p. 263—284.
—, **01a.** Über die Muskulatur des Herzens beim Menschen und der Tierreihe. Müllers Arch.
Westphal, E., **80.** Über Mastzellen. Inaug.-Diss. Berlin.
Whitmann, C. O., **88.** The eggs of amphibia. American Naturalist. Vol. 22.
Wicklein, E., **89.** Experimenteller Beitrag zur Lehre vom Milzpigment. Inaug.-Diss. Dorpat.
Wimmer, A., **06.** Über Neurogliafärbung. Zentralbl. f. allg. Path. und pathol. Anat. 17. Bd.
Wissozky, N., **77.** Über das Eosin als Reagens auf Hämoglobin etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.
Wolff, Elise, **02.** Beobachtungen bei der Färbung der elastischen Fasern mit Orzein. Zentralbl. f. Path. und patholog. Anatomie. 13. Bd.
Wolff, Max, **05.** Neue Beiträge zur Kenntnis des Neurons. Biolog. Zentralbl. 25. Bd.
Wolfram, **05.** Zelloidintrockenmethode. Klin. Monatsblätter für Augenheilkunde. 43. Jahrg.
Wolters, M., **90.** Drei neue Methoden zur Mark- und Achsenzylinderfärbung mittels Hämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7.
Woronin, **98.** Eine neue histologische Methode. Arbeiten aus der therapeutischen Klinik von P. M. Popoff. Moskau. (Russisch.)

Zenker, K., **94.** Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. München. med. Wochenschr. Jahrg. 41, p. 532—534.

Ziegler, H. E., **02.** Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena.

Ziegler, P., **99.** Ein Beitrag zur Technik der histologischen Untersuchung des Knochens. Festschrift zum 70. Geburtstag v. Kupffers. p. 49—52.

Zieler, Karl, **06.** Zur Darstellung der Leukozytenkörnelungen, sowie der Zellstrukturen und der Bakterien in Geweben. Centralblatt für allg. Path. und patholog. Anat.

Zilliacus, W., **05.** Utbredningen af skif och cylinderepithel i människans struphufrud under olika åldrar. Helsingfors. Nach einem Referat von Kolster: Zentralbl. für norm. Anat. u. Mikrotechnik **06.**

Zimmermann, A., **95.** Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wiss. Mikr. Leipzig und Wien.

Zimmermann, K. W., **98.** Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52, p. 552—706.

Zürn, J., **02.** Vergleichend histologische Untersuchung über die Retina und die Area centralis retinae der Haussäugetiere. Arch. f. Anatomie, Supplementband.

Autoren-Register.

§§

Abbe 335, 448.
Achard et Aynaud 379.
Afanassiew 398.
Albrecht 392.
Alexander 338, 1009.
Altmann 27, 174, 358, 360, 361, 362, 707, 708, 716, 736, 976, 980.
v. Apáthy 119, 126, 133, 139, 156, 188, 192, 194, 216, 250, 251, 259, 263, 294, 300, 304, 668.
Argutinsky 195.
Auerbach 773.
Azoulay 482, 685.

Balfour 78.
Ballowitz 852, 970.
Balter 617.
Barfurth 585, 880.
Barlow 921.
Bartel 689.
Bastian 566.
Behrens 788.
Benda 106, 270, 354, 465, 690, 822, 857.
Beneden, siehe Van Beneden.
Beneke 512.
Berkley 799.
Bethe 223, 601 f., 625, 667.
Biedermann 753.
Bielschowsky 458, 621, 641, 670, 773, 796, 826, 947.
Biondi 309, 404, 424, 429, 771, 787, 812.

§§

Bizzozero 24.
Björkenheim 474, 596.
Blanc 866.
Blum 88.
Böhm 784, 824, 870, 954.
Böhmer 251, 253, 255, 264, 302, 750.
Boeke 869.
Bokay 503.
Bonnet 960.
Bonney 350.
Born 154, 177, 328, 332, 333, 336, 338, 580, 881.
Boveri 860.
Bowman 565.
Brandt 131.
Braus 786.
Bremer 608.
Browicz 88.
Brunk 91.
Bürker 430.
Burchardt 36.
Burkhardt 24.
Bütschli 357.
Buzzi 926.

Cajal Ramon y 307, 657, 671, 685, 784, 961, 999, 1000, 1015.
Carnoy 85, 357.
Carnoy et Lebrun 882.
Carrière 954.
Caullery et Charppelier 118.
Chatin 494.
Chilesotti 648.

§§
Chrzonszczewsky 782, 821.
Ciaccio 971.
Coccius 380.
Cohn 793.
Cohnheim 446, 566, 569, 606.
Cohnstein 396.
Cornil 969.
Corning 664.
Corti 1004, 1006.
Cox 640, 653, 824.
Czokor 246.

Daddi 483.
Davidoff, v. 824.
Deetjen 90, 408.
Delafield 255, 299, 345, 640.
Delamare 308.
Descemet 968.
Diessen 798.
Dogiel 622, 997.
Dreser 1001.
Dürck 700.
Duesberg 354.
Duval 95.

Eberth 828.
Ebner, v. 512, 533, 539, 542, 555, 586, 738.
Edinger 43.
Ehrlich 213, 257, 272, 309, 404, 416, 417, 418, 420, 422, 423, 429, 448, 737, 757, 771, 787, 812, 997.
Ellenberger 769.
Enderlen 719.
Engel 448.
Engelmann 13, 604.
Erlicki 35, 38, 42, 673, 676, 681.
Ewald 375, 376, 399, 438, 446, 471, 531, 558, 580, 752, 850.

Faworski 670.
Ferria 938.
Fick 851, 879, 880, 927.
Filatoff 187, 254.
Fischel 933.
Fischer, A. 27, 29, 41, 52, 88, 89, 221, 223, 362, 798.

§§
Fischer, E. 297, 607, 608.
Flechsig 686.
Flemming 27, 50, 53, 56, 57, 58, 276, 278, 345, 348, 353, 461, 482, 515, 537, 576, 585, 638, 685, 710, 711, 727, 729, 752, 768, 771, 800, 802, 812, 841, 855, 857, 868, 896, 909, 921, 934, 964, 1003, 1011.
Fleischl 599.
Flesch 503.
Flinser 380.
Flint 476, 715.
Fol 57.
Forel 647.
Foster 78.
Franke 873, 885.
Freeborn 455.
Frey 251.
Friedenthal 87.
Friedländer 256.
Frommann 592, 594, 649.
Froriep 560, 578.

Gad 617.
Gasser 77.
Gaule 174.
Gerlach 646, 650, 789.
Giannuzzi 737.
Gierke 314.
Giesbrecht 99.
Gieson, siehe Van Gieson.
Gilson 85.
Götsch 523.
Goldscheider 959.
Goldschmidt 356.
Golgi 88, 611, 614, 651, 652, 654, 655, 658, 659, 688, 730, 737, 747, 772, 824, 999, 1015.
Grabower 608.
Gram 282, 345, 856.
Grandry 947, 952.
Grawitz 448.
Greef 1001.
Grenacher 421.
Grosser 706.
Grünwald 425.

§§
Gscheidlen 435.
Gudden 659, 680.
Günther 653.
Gulenko 526.
Gulland 174.
Gurwitsch 267.

Häcker 859.
Hagen, Clara 728.
Hällstén 446.
Halliburton 600.
Hamburger 13.
Hammer 344.
Hannover 32.
Hansen 259, 454, 491 ff., 501, 721, 765.
Hart 462.
Hassal 814.
Haug 505, 518.
Hayem 431.
Heidenhain, M. 86, 99, 184, 221, 223, 262, 266, 276, 309, 314, 352, 377, 399, 562, 578, 586, 737, 787, 862.
Heidenhain, R., 263, 309, 314, 404, 429, 729, 748, 762, 771, 812, 823.
Heider 127.
Heilmeyer 781, 794.
Heineke, H., 713, 726.
Held 36.
Helly 74, 176.
Henle 598, 819, 943.
Henneguy 185.
Hensen 49, 916.
Herbst 947, 952.
Hermann 27, 58, 88, 294, 345, 854, 856.
Hertwig, O., 876.
Herxheimer 484.
His 331, 338, 712.
Höhl 473.
Hörmann 849.
Holmgren 86, 446, 510, 645.
Hoyer 757.
Huber 412, 691.

§§
Jackson 475.
Jacobson 32.
Jordan 127.
Joris 672.
Joseph 961.
Jung 131.

Kaes 682.
Kahlbaum 354.
Kahlden, v. 299, 518.
Kaiser 218.
Kaiserling u. Germer 26.
Kallius 662.
Kann 827.
Kastschenko 331, 338.
Key 21.
Klaatsch 554.
Klebs 95.
Klein 763.
Kleinenberg 78, 258.
Koch v., G. 529.
Koch, L. 135.
Kockel 441.
Kölliker, v., 547, 548, 599, 604, 736, 806.
Kolossow 386, 387.
Kopsch 355, 643, 659, 786, 807, 868.
Kostanecki 862
Krause, C. 380.
Krause, R. 310, 787.
Krause, W., 565, 946, 994, 995.
Krönig 217.
Kronecker 16.
Kronthal 663 f.
Krysiński 123.
Krzyształowicz 940.
Kühne 471, 575, 595, 609, 770, 1001.
Kultschitzky 270, 585, 681, 682.
Kupffer, v., 600, 703, 775, 784, 789, 790, 791, 792.
Kupffer und Benecke 863.

Lakhart 204.
Lang 63, 71.
Langendorff 812.
Langerhans 627.

§§
Langley 745, 758.
Lanterman 589, 590.
Lea 770.
Leber 974.
Lebhardt 847.
Ledermann 926, 961.
Lee 122.
Lefas 424.
Lenhossék 503, 645.
Lepkowsky 545.
Levi 374, 581, 777, 984.
Lewall 745.
Lindemann 484.
Lo Bianco 72.
Löwenbach 961.
Loewenthal 43.
Löwit 607, 608, 610, 951, 960.
London 689, 827.
Lubosch 863.
Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern 952.
Lugaro 642.
Lundvall 502.

Maas 766, 767.
Mall 472, 716.
Mallassez 528.
Mallory 261, 456.
Marchi 678, 685, 687, 688.
Maresch 458.
Markovitin 624.
Martinotti 938.
Maximoff 935.
May 425, 427.
Mayer, P., 64, 78, 179, 181, 238, 242, 244, 245, 249, 250, 259, 260, 278, 280, 286; 292, 758.
Mayer, S., 666.
Mays 376, 399.
Meißner 773, 947, 948, 949, 951.
Mercier 73.
Merkel 740, 788, 944, 964.
Merton 620.
Metzner 278, 359.
Meves 354, 397.
Meyer Erich 426, 428, 713, 725.
Michaelis 186.

§§
Mönkeberg 601.
Moleschott 579.
Morel et Doléris 312.
Müller, Albert, 584.
Müller, E., 10, 747, 787.
Müller, H., 27, 35, 37, 42, 73, 299, 461, 482, 483, 516, 651, 652, 654, 673, 678, 681, 685, 687, 693, 786, 916, 919, 925, 938, 942, 962, 987, 1003, 1008.
Müller, H. F., 404, 448.
Münch 583.
Muschenkoff 612.
Muthmann 32.

Nabias 619.
Nägeli 411.
Neelsen 124, 440.
Negro 616.
Neyt 350, 357.
Nikiforoff 416.
Nißl 269, 638, 639, 688.
Noll 745.
Novak 895.
Nuel 969.

Oberhäuser 335.
Obregia 190.
Oppel 719, 785, 795.
Orsós 810.
Orth 462.

Pacini 947, 955.
Pal 270, 652, 676, 678, 685, 687, 856.
Partsch 421.
Perényi 81, 825.
Peter 333, 338, 883.
Petersen 191.
Pfitzner 208, 276.
Plehn 433.
Plien 641.
Pleuge 21.
Podwissotzki 276, 576.
Policard et Garnier 24, 815.
Politzer 1008.
Poll 87.

§§

Popoff 355.
Pranther 464.
Pray 1009.
Prichard 566, 954.
Purkinje 328, 588, 693.
Purkyně, siehe Purkinje.
Prudden 255.

Rabl, C., 80, 81, 84, 127, 246, 345, 645, 982.
Rabl, H., 482, 828.
Ranke, H., 3.
Ranvier 17, 369, 378, 384, 450, 538, 546, 567, 568, 571, 573, 588, 589, 592, 594, 607, 610, 703, 709, 730, 797, 803, 823, 972, 973, 975, 976, 988, 1005, 1014.
Rath, vom, 59.
Ratkowski 926, 961.
Rauber 894.
Rawitz 298.
Reichert 434, 578.
Reinke 89, 185, 349.
Remak 603, 1011.
Renaut 814.
Retzius 21, 540, 566, 1004.
Ribbert 793.
Rieder 426, 428.
Riese 662.
Rivet 131.
Röntgen 713.
Röse 290, 529, 553.
Röthig 466
Rollett 438, 453, 565, 566, 569, 574, 971.
Rosenthal, W., 484.
Roth 853.
Rothe 790.
Rouville, de, 20.
Rubaschkin 197, 692.
Rudneff 46, 92, 445.
Rückert 854.

Sabin 457.
Saleski 723.
Samassa 93.
Sauer 825.

§§

Schaffer 80, 455, 482, 509, 555, 585, 653.
Scheibe 1008.
Schiefferdecker 124, 931.
Schmaus 648.
Schmorl 522.
Schneider 183.
Schridde 359, 389, 432.
Schridde und Fricke 239, 313.
Schuberg 293, 930.
Schueninoff 442.
Schultze, M., 15, 32, 46, 210, 370, 407, 633.
Schultze, O., 51, 108, 211, 265, 382, 555, 677, 839, 875, 879, 909, 912, 937.
Schulze, F. E., 46, 577, 806.
Schwalbe, E., 393.
Schwann 597.
Schweigger-Seidel 818.
Seligmann 1001.
Semon 881.
Sharpey 543, 546, 547, 548.
Siedlecki 862.
Sihler 617.
Sitten 91.
Sjövall 355, 644.
Sobotta 913.
Sokoloff 745.
Solger 141, 353, 486, 559, 736.
Spalteholz 472, 475.
Spee, Graf, 109, 540.
Spuler 73, 247.
Srdinko 829.
Ssobolew 277.
Stern 992.
Stintzing 750.
Stöhr 615, 937.
Stöltzner 69, 514.
Stork 864.
Strasburger 268.
Strasser 334, 336, 338, 881.
Streeter 684.
Streiff 328.
Strelzoff 551, 552.
Strobansky 291.
Ströbe 651.

§§
Taenzer 463, 936.
Tandler 705.
Tappeiner, v., 32.
Tartakowsky 723.
Teichmann 436.
Teljatnik 687.
Tellyesniczky 26, 30, 36, 40, 76, 196.
Thanhoffer, v., 402.
Thies 713.
Thoma 131, 448, 519.
Thomé 141.
Tonkoff 290.

Unna 259, 389, 463, 482, 640, 936
Urban 170.

Van Beneden 350, 357.
Van Gieson 299.
Vater 947, 955.
Virchow, H., 45, 868.
Virchow, R., 437, 549.

Waldeyer 248, 928.
Wallert 724.
§§
Weidenreich 411.
Weigert 88, 147, 170, 189, 190, 269, 270, 280, 288, 301, 440, 441, 460, 461, 496, 645, 665, 673, 674, 675, 676, 678, 681, 688, 695, 721, 765, 809, 936, 960.
Weil 529.
Weismann 571, 572.
Welch 170.
Westphal 421.
Whitman 877.
Wicklein 722.
Wissozky 402.
Wolfrum 122.
Wolters 682.
Woronin 388.

Zachariadés 472.
Zenker 73, 841, 896, 964.
Ziegler, P., 505.
Zieler 432.
Zilliacus 390.
Zimmermann, K. W., 747.

Sachregister.

§§

A.

Ablösung des Eiweißes . . 181
Absoluter Alkohol . . . 100
Abtupfen von Schnitten . 170
Abziehen des Mikrotom-
messers 140
Abziehen d. Rasiermessers 7
Achsenzylinder . . . 599, 648
Acidophilie 273
Adenoides Gewebe 469, 712 ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 398
Alaunkarmin . . . 237, 239
Alaunkarmin-Dahlia . . . 421
Alkanna 753, 926
Alkohol absolutus . . . 100
Alkoholbetäubung . . . 445
Alkohol 1/3 (Ranvier) . . 369
Alkohol-Eisessig 31
Alkoholfixierung 28
Alkoholhärtung 19
Alkoholische Boraxkarmin-
lösung 241
Alkoholtabelle 20
Alkoholverdünnung . . . 20
Altmanns Gefriermethode . 360
» Granulamethoden 358 ff.
Altmannsche Korrosions-
methode 707, 980
Alveoläres Bindegewebe . 471
Alveolenepithel der Lunge 806 f.
Amöboide Bewegung . . 406
Amphibieneier 834, 838, 873 ff.
Anilinblau für Knochen . 538

§§

Anilinblau (Ströbe) . . . 651
Anilinfarben, s. Teerfarben.
Apáthys Goldmethode . . 668
Aqua Javelli . . 676, 707, 878
Areoläres Gewebe . . . 468
Argentum nitricum . . . 378
Ascaris megalocephala . . 351
Atmungsorgane . . . 800 ff.
Atropin 733
Auerbachscher Plexus . . 773
Aufhellungsmittel für
Zelloidinpräparate . . . 169
Aufkleben . . . . . 171 ff.
von Zelloidinschnitten 189 ff.
nach Apáthy . . 192, 194
» Argutinsky . . 195
» Michaelis . . . 186
» Obregia 190
» Olt 198
» Rubaschkin . . 197
» Weigert 189
von Paraffinschnitten 175 ff.
mit Alkohol 174
» Eiweiß 181
» Eiweiß-Wasser . . 185
» Farblösung . . . 179
» Gelatine 198
» Kollodium-Rizinusöl 334
» Traumatizin etc. . 358
» Wasser 179
» Zucker-Dextrin . 191
von Zelloidin-Paraffin-
schnitten 188

Aufspannen der Nerven 593, 600
Aufspannen v Darmstücken 743
Auge . . . . . 962 ff.
Außenzone des Pankreas . 771
Auswaschen . . . 32, 42, 225
Azeton 27, 99, 102
Azetonfixierung 91
Azoulays Markscheidenfärbung 685

B.

Bänderschneiden . . 109, 159
Bariumbichromat 36
Basichromatin 341
Basische Teerfarben 272, 276 ff.
Basophilie 273
Bauchspeicheldrüse . . 770 ff.
Becherzellen . . . . 757 ff.
Befruchtung, künstliche 865, 874
Befruchtung, Neunaugen . 863
Belegzellen . . . . . 744 ff.
Belegzellengranula . . 745 ff.
Beleuchtungsapparat . . . 319
Bendasche Hämatoxylinfärbung 857
Benzoazurin 183
Berlinerblau, Herstellung . 703
» Imprägnation 666, 974
» Leim 703
» Reaktion . . 722
Bezeichnung der Schnittreihenfolge 172
Bindegewebe . . . . 449 ff.
Bindegewebe der Leber 789 ff.
Vergoldung 789
Dichromsaures Silber . 795
Verhalten gegen Reagenzien 472
Bindegewebsfärbung 454 f., 765 ff.
Bindegewebsknorpel . . . 501
Biondi-Ehrlichs Dreifarbgemisch 309, 404
Bismarckbraun 280
Bleichmittel . . . . . 363 ff
Blende 316
Bleu de Lyon . . . 290, 553
Bleu de Lyon-Pikrinsäure . 291
Blut . . . . . 391 ff.
» -Gefäße . 695, 779, 811, 817
» -Körperchen . . . 391 ff.
Blutkörperchen, Glockenform 411
Blutkörperchenmembran . 392
Blutkörperchenzählapparat 448
Blutkreislauf . . . . 443 ff.
Blutkristalle . . . . . 434 ff.
Blutplättchen . . . 398, 430
Böhmersches Hämatoxylin 251
Bonnetsche Hämatoxylinmethode 960
Boraxkarminlösung, alkoholische 241
Boraxkarminlösung, wässerige 240
Borns Plattenmodelliermethode . . . . . 332 ff.
Borns Wärmtischchen . . 177
Brownsche Bewegung . . 366
Brüten 894

C.

Calciumbichromat 36
Calciumchlorid 14, 90
Chlor, nascierendes . . . 365
Chloralhydratlösung . . . 995
Chloroform für Paraffindurchtränkung 99
Chlorwasser 364
Chondroitinschwefelsäure . 491
Chondromucoid 491
Chorioidea 980
Chromameisensäure . . . 82
Chromatin 55, 340
Chrom-Essigsäuregemisch . 868
879, 880
Chromidien 355, 357
Chromophoren 754
Chrom-Osmiumessigsäuregemisch . . 33, 53, 56, 57
Chromsäure . 32, 372, 516, 867
Chromsaures Ammoniak (neutral) 823
Chromsaures Silber, siehe dichromsaures Silber.

§§

Chrzonszczewskys Methoden 782, 821
Cochenille-Alaun . . 246, 247
» -Tinktur . . . 245
Cornea . . . . . 966 ff.
Corneafibrillen 977
Cortisches Organ 1007
Cox Granulafärbung . . . 640
Cox Sublimatfärbung . . 653
Cresylechtviolett 927
Cresylviolett 611
Cutisbindegewebe . . 933 ff.
Cyanophilie 346

D.

Dahlia-Alaunkarmin . . . 421
Dammarharz 208
Darm . . . . 727 ff., 742 ff.
Darm, zytogenes Gewebe . 769
Dauerpräparate von Blutkörperchen . . 399, 410 ff.
Deckgläschen 2
Deckglaspräparate . . . 413
Definierflächen 331
Delafields Hämatoxylin . 255
Dentinfibrillen . . . . 541 f.
Descemetsches Endothel 968 f.
Dichromsaures Kalium, siehe Kalium bichromicum.
Dichromsaures Silber 654 ff., 719, 784 ff., 795, 799
Doppelfärbungen . . . 285 ff.
Doppelmesser . . . . . 8 f.
Doppeltchromsaur. Kalium, s. Kalium bichromicum.
Dotterfärbung 883
Drüsen . . 731 ff., 734 ff., 802
Durchtränkung . . . . 94 ff
» langsame . 103
» s-Schema . 128

E.

Eau de Javelle 676, 707, 878
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 512

§§

Ehrlich-Biondische Färbung . . 309, 404, 429, 737
Ehrlichs Hämatoxylin 256, 773
Ehrlichsche Granula . . 417 ff.
Eier . . . . . 833 ff., 858 ff.
» von Amphibien . 834, 838, 873 ff.
» » Fischen 834, 838, 864 ff.
» » Reptilien 834, 838, 885 ff.
» » Säugetieren 836 f., 839 f., 904 ff.
» » Vögeln 834, 894 ff.
» » Wirbellosen 351, 859
Eier, dotterreiche 871
Eierstock . . . 832 ff., 841 ff.
Eileiter . . . . . 844 f.
Einbetten . . . . . 115 f.
Einbetträhmchen . . 115, 333
Einschließen . . . . 201 ff.
Einschließen von Knochenschliffen . . 536 ff.
Einschlußmassen . . . 202 ff.
Einspannen 146
Einstellen mit dem Mikroskop . . . . . 323 ff.
Einstichinjektion 709
Eisenhämatoxylin 266, 267, 301
Eisennachweis . . . . 722 ff.
Eisessig, siehe Essigsäure.
Eiweiß (aufkleben) . 181, 197
Eiweiß-Injektionsmasse . 706
Eiweißkörper 27
Eiweißlösende Reagentien 183
Elacin 939
Elastin 940
Elastische Fasern der Cutis 936 ff.
» » » Lunge 808 f.
Elastische Netze 696
Elastischer Knorpel . . 495 ff.
Elastisches Gewebe . . 459 ff.
Eleidintropfen 926
Embryologische Technik 858 ff.
Endokard 694
Endothelien . . . . 378 ff.
Entkalken . . . . . 504 ff.
» nach Alexander 1009
» » Pray . 1010

§§

Entkalkungsflüssigkeiten.
Alkohol-Salpetersäure . . 519
Chromsäure 516
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 512
Flemmingsche Lösung . 515
Formol-Salpetersäure . . 1009
Konzentrierte Pikrinsäure **508**
Müllersche Lösung . . 516
Phlorogluzin mit Salzsäure 518
Pikrin- und Salpetersäure 508
Pikrinsäure, konzentr. . **508**
Salpetersäure **509**
Salzsäure 506
Salzsäure-Chromsäure . 507
Schweflige Säure . . . **505**
Eosin **296** ff., 305, 401 f., 418 f.
Eosinophile Zellen . . . 418
Epidermiszellen 923
Epithelfasern . . . 389, 933
Epithelien . . **367** ff., 471, 751
Epithelien der regio olfactoria 1013
Epithelien der regio respiratoria 1012
Epithelverteilung 390
Erhitzen der Blutpräparate 416
Erlickische Flüssigkeit . . 38
Erwärmbarer Objekttisch . 407
Erythrosin 645
Erythrozyten . . . . 391 ff.
Essigsäure 27, 34, 40, 53 ff., 73, 451, 454 f., 460, 605, 762, 870
Essigsaures Kalium . . . 210

F.

Fällungskraft d. Fixierungsmittel 27
Färbbarkeit, Herstellung ders. 277
Färbetechnik, Einübung 230 ff.
Färbung . . . . . 220 ff.
» adjektive 227
» progressive . 228, 271

§§

Färbung regressive . 228, 271
» simultane . . . 285
» substantive . . . 227
» succedane . . . 285

Färbemethoden.
Alaunkarmin 237
» -Dahlia . . **421**
Alkoholische Boraxkarminlösung . . . 241
Anilinblau . . . 538, 651
Anilinfarben, siehe Teerfarben.
Azoulays Markscheidenfärbung 685
Bendas Hämatoxylin . . 857
Benzoazurin 184
Berlinerblau 703
Biondi-Ehrlich, s. Ehrlich-Biondi.
Bismarckbraun 280
Bleu de Lyon . . **290,** 553
Böhmers Hämatoxylin . 251
Boraxkarminlösung, alkoholische 241
Boraxkarminlösung, wässerige 240
Cochenille-Alaun . . . 246
Dahlia-Alaunkarmin . . 421
Delafields Hämatoxylin . 228 255
Doppelfärbungen . . 285 ff.
Ehrlich-Biondische Färbung . . . **309,** 404, 429
Ehrlichs Hämatoxylin . 257
Eisenhämatoxylin . . 266
Eosin **296** ff.. 305, 401 f., 418 f. 551
Erythrosin 645
Friedländers Hämatoxylin 256
Fuchsin **281**
Fuchsin S. 299, 306, 309, 358, 423, 454, 455, 461, 497, 716
Gentianaviolett 282, 348, 856
van Giesonsche Färbung 299
Glychämalaun 260
Goldmethoden, s diese.
Golgis Methoden, s. diese.

Färbemethoden.

Gramsche Methode 282, 856
Grenachersche Karmine . 237 241
Hämalaun (P. Mayer) . 249
Hämatoxylin, s. dieses.
Hämatoxylin-Eosin . . 298 f.
Hämatoxylin-Indigokarmin 292
Hämatoxylin-Pikrinsäure **295**, 484
Hansens Bindegewebsfärbung 454
Hansens Hämatoxylin . 259
M. Heidenhains Hämatoxylin 266
R. Heidenhains Hämatoxylin 263
Indigokarmin 292, 782, 821, 944
Indulin . . . . . 418 f.
Karmin-Bleu de Lyon . 290
Karminfärbung, s. diese.
Karmin-Hämatoxylin . 551
» -Indigokarmin . 292
Kernfärbung . . . . 225 ff.
Kleinenbergs Hämatoxylin 258
Kongorot . . . . 750, 766 ff.
Kultschitzkys Hämatoxylin . . . . . 681 f.
Magenta, s. Fuchsin.
Magenta-Pikroindigokarmin 307
Mayer, P., Glychämalaun 260
» » Hämalaun . 249
» » Karmalaun . 238
» » Muchämatein 761
» » Muzikarmin . 759
» » Parakarmin . 244
Mehrfachfärbungen . . 285 f.
Methylenazur . . . . 427 f.
Methylenblau 384, 422, 423, 490, 503, 639, 640, 730, 757, 997
Methylenblau-Eosin . 425 ff.
Methylgrün 279, 305, 306, 309 357, 551
Methylgrün-Eosin . . . 305
Methylgrün-Fuchsin S. . 306
Methylgrün-Fuchsin S. Orange **309**
Methylviolett 538
Muchämatein 761
Muzikarmin 759
Neutraler Farbstoff . . 423
Nigrosin 455
Nißls Hämatoxylinfärbung 269
Orange . **302**, 309, 348, 418
Orzëin . . . **463**, 721, 765
Orzëin-Hämatoxylin-Fuchsin S.-Pikrinsäure 308
Osmiumsäure 47
Palsche Hämatoxylinfärbung 676
Pikrinsäure . 276, 299, 358
Pikrokarmin . . . 287, 288
Pikromagnesia-Karmin . 286
Pikronigrosin 455
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin . . . **276**, 342, 348
» -Gentianaviolett . 856
Safranin-Indigokarmin . 294
» -Pikrinsäure . . 295
Schneiders Karmin . . 183
Schnittfärbung . . . 229 f.
Stückfärbung . . . 229 f.
Sublimat . . . . . 652 ff.
Sudan III 483
Tabelle der Mehrfachfärbungen 314
Taenzer-Unnasche Orzeinfärbung 463
Teerfarben, siehe diese.
Thionin . . 278, 638, 757
Triazidgemisch 309
Urankarmin 648
Versilberungsmethoden, siehe diese.
Wässerige Boraxkarminlösung 240
Weigert, elastische Fasern 461
» Fibrinfärbung . 440
Weigerts Hämatoxylin 673 ff.
Färbetechnik, Einübung . 230

§§
Färbung . . . . . 220 ff.
Färbung durch Fixationsmethoden 220
Färbung durch Osmiumsäure 47, 220
Farbgläser 235
Fett . . . . . 480 ff., 685
Fettfärbung . . . . . 483 ff.
Fettimprägnation 708
Fettlöslichkeit 482
Fettponceau 484
Fettresorption . . . . 752 ff.
Fettzellen . . . . . 480 ff.
Fibrillen der Muskeln . 563 ff.
» des Nerven . . 600
» der Sehne . . 453 ff.
Fibrinfärbung . . 439 ff., 442
Fischeier . . . 834, 838, 864 ff.
Fixationsmethoden . . . 22 ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 398
Alkohol-Eisessig . . . 31
Alkoholfixierung . . 28 ff.
Azeton 91
Carnoysche Flüssigkeit . 85
Chloralhydratlösung . . 995
Chromameisensäure . . 82
Chromessigsäure 868, 879, 880
Chromosmiumessigsäure 53, 56, 57
Chromsäure . . 32, 516, 867
Doppeltchromsaures Kalium 35
Erhitzen der Blutpräparate 416
Erlickische Flüssigkeit . 38
Flemmingsche Lösung 53, 56, 878
Folsche Mischung . . 57
Formol 88, 875
Gefrieren . 18, 21, 141, 360
Gilsonsche Flüssigkeit . 85
Hermanns Gemisch 58, 856
Kaliumbichromat-Essigsäure 40
Kalium bichromicum . . 35
Lysol 89
Merkelsche Flüssigkeit . 964
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure . . 361
Müllersche Flüssigkeit . 37
Orths Gemisch 39

§§
Fixationsmethoden.
Osmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Osmiumtetroxyd 46 ff., 381, 399, 410, 482, 567, 591, 593, 600, 988
Perényische Flüssigkeit 81, 825
Pikrinessigsäure . . . 890
Pikrinosmiumessigsäure . 60
Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure . . 61
Pikrinsäure 77, 295, 299, 358, 508, 716
Pikrinsalpetersäure . 78, 508
Pikrinschwefelsäure 78, 887, 896, 907
Pikrinsublimat 80
Pikrinsublimatosmiumsäure 62
Platinchloridlösung . 83, 345
Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig . . 58, 856
Platinchloridsublimat . . 84
vom Rathsche Gemische 60, 61, 62
Salpetersäure 76, 342, 381, 896, 987
Salpetersäure-Silbernitrat 381, 901
Sauersche Flüssigkeit . 825
Sublimat 63 ff., 342, 415, 902
» -Alkohol . . 70
» -Blutpräparate 415
» -Chromsäure . 72
» -Eisessig . . 870
» -Kochsalz . 68, 415
Trocknen 18
Überosmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Zelloidin 92
Zenkersche Flüssigkeit 73
Fixierung und Färbung zugleich 313
Fixierungsflüssigkeiten . 22 ff.
Flächenhafte Rekonstruktion 329, 331
Flechsigsche Methode . . 686
Flemmingsche Flüssigkeit 53, 56

§§

Flimmerepithelien . . . 367
Folsche Mischung . . . 57
Form zum Einbetten . . 115
Formaldehyd, siehe Formol-
Formalin, siehe Formol.
Formol 21, **88**, 875
Formolpigment 88
Formolräucherung . . . 412
Friedländers Hämatoxylin 256
Frische Organe . . . **1**, 367
Fromannsche Linien 592, 594, 649
Fuchsin **281**
Fuchsin S. 299, 306, 309, 358, 423, 454, 455, 461, 497, 716
Fußplatte des Mikroskops . 315

G.

Galle 395, 1001
Gallenkapillaren.
Färbung 787, 788
Injektion 780
Selbstinjektion 782
Silbermethode 784, 785, 786
Ganglienzellen . . . . 629 ff.
Ganglienzellenfäulnis . . 637
Gedehnter Muskel . . . 567
Gefäße . . . . . 695 ff.
Gefrierapparat 141
Gefrieren 18, 21, 141
Gefriermethode Altmanns . 360
Gefriermikrotom 142
Gehirn . . . . . 628 ff.
Gelatine, kaltflüssige . . 705
Gelatinekarminlösung . . 702
Geldrollen-Anordnung der roten Blutkörperchen . 391
Gentianaviolett 282, 348, 856
» neutrales . 349
Gerlachsche Goldmethode 650
Geschlechtsorgane . . 832 ff.
Geschmacksknospen . . 730
Giannuzzische Halbmonde 737
Gitterfasern 795
van Giesonsche Färbung . 299
Glatte Muskelfasern . . 578 ff.

§§

Glomeruli olfactorii . . . 670
Glychämalaun 260
Glykogen . . . 495, 797, 798
Glyzerin . . 168, 201, 202, **209**
Gold, kolloidales 672
Goldchlorid 608
Goldchloridkalium . 611, 650
Goldmethoden . . . . 606 ff.
Apáthysche G. . . . 668 f.
Böhmsche G. 954
Cohnheimsche G. . . . 606
Gerlachsche G. . **650**, 789
Golgische G. 611
Kühnesche G. 609
v. Kupffers G. . . 789, **791**
Lepkowskysche G. für Knochen **545**
Löwit-Fischersche G. . 608
Muschenkoff 612
Nabias 619
Ranviersche G. . . . 610
Rolletsche G. f. Muskeln 566
Stöhrsche G. 615
Golgische Goldmethode . 611
Golgische Sublimatmethode 652
Golgis Silbermethoden 654 ff., 665
Golgis Nervenendorgane . 614
Gramsche Methode . . . 856
Grandrysche Körperchen 952 ff.
Granula der Ganglienzellen 640
Granulamethoden Altmanns . . . . . 358 ff.
Granulierte Leukozyten . 417 ff.
Graphische Isolierung . . 331
Grenachersche Karmine 237 ff.

H.

Haare . . . . . 941 ff.
Hämalaun (P. Mayer) 231 ff., **249**
Hämatoidinkristalle . . . 437
Hämatoxilin.
Apáthy 250
Benda 857
Böhmer 251
Bonnet 960
Delafield 228, 255

§§

Hämatoxylin.

Ehrlich 256
Friedländer 256
Hansen 259
Heidenhain, M. . 262, 266
Heidenhain, R. . . . 263
Hermann 856
Kleinenberg 258
Kultschitzky . . . . 681 f.
Mallory 261
Mayer, P. (Glychämalaun) 260
» » (Hämalaun). . 249
» » (Muchämatein) 761
Nißl 269
Pal 676
Sabin 457
Schultze, O. 265
Weigert . . 301, 673, 674 ff.
Wolters 682
Hämatoxylin-Eisessig . . 254
Hämatoxylin-Eosin . . 296 f.
» -Färbung . 230 ff., 249 ff., 253
» -Fuchsin S.-Pikrinsäure . . 301
» -Indigokarmin 292
» -Kongorot 750, 766
» -Orange G. . 302
» -Pikrinsäure . 295
» -Rubin-Ammoniumpikrat . 300
Hämatoxylintinte 264
Häminkristalle 436
Hämoglobin 393
» -Kristalle . 434 f.
Härtung 19, 21
Halbeintrocknung Ranvier 450
Hallsche Flüssigkeit . . . 723
Hansens Bindegewebsfärbung 454, 721, 765
» Hämatoxylin . . 259
Harnblase . 4, 367, 586, 827
Harnkanälchen . . . 818 ff.
Hartgebilde . . . . . 530 ff.
Hauptzellen 745, 748
Haut . . . . . 919 ff.
Heber nach Mays . . . 376

§§

Heidenhain, M., Hämatoxylinfärbung 266
Heidenhain, R., Hämatoxylinfärbung 263
Heizbarer Objekttisch . . 407
Henlesche Scheide . . . 598
Herbstsche Körperchen 952 ff.
Hermannsches Gemisch 58, 856
Herz . . . . . 693 ff.
Herzmuskel . . . . . 587 ff.
Hissche Pinsel- u. Schüttelmethode 712
Hoden . . . . . 854 ff.
Höllenstein 378
Hollundermark 6, 409
Holzessig 59, 773
Hornhaut . . . . . 966 ff.
Hornhautkörperchen . . 972 ff.
Hornspongiosanetze . . . 595
Hornsubstanz . . 471, 924 ff.
Humor aqueus 12
Hyaliner Knorpel . . 487 ff.
Hydrargyrum bichloratum s. Sublimat.
Hydrochinon 662

I.

Immersionslinsen . . . 320 f.
Indifferente Lösungen . 11 ff.
Indigokarmin 292, 782, 821, 944
Indulin 419
Injektionsverfahren . . . 702
Injektion der Blutgefäße 701 ff.
Injektion der Blutgefäße der Leber 779
Injektion der Blutgefäße der Niere 817
Injektion der Gallenwege . 780
Injektionsmassen . . . 702 f.
Injizieren von Fixationsflüssigkeit 742
Innenzone des Pankreas . 771
Instrumente für Sublimat . 63
» » Versilberung 383
Interzellularbrücken 386 f., 585

§§
Jodfärbung 495
Jod-Jodkalium 17
Jodserum, M. Schultze . 15, 370
Iris 979
Isolationsmittel
368 ff., 563 ff., 630 ff., 818 f.
Abhebern 375. 376
Alkohol, Ranvier 369, 375, 588, 630, 632, 823, 985, 1012 ff.
Ammonium bichromicum 373
» monochromat. 588
Barytwasser 453
Chloralhydrat 995
Chromsäure 372, 563, 599, 634
Erhitzen im Sandbad . 574
Essigsäure 564
Jodserum . . . 15, 370, 633
Kalilauge 572, 579, 587, 696, 820
Kalium bichromicum . 373 599, 635
Kalkwasser . . . 453, 971
Magensaft 564
Natronlauge 696
Neutrales chroms. Ammoniak 823
Osmiumsäure 371, 630, 636, 751
Rauchende Salpetersäure 578, 819
Salizylsäure 578
Salpetersäure . 578, 819, 983
Salzsäure 564, 818
Schwefelsäure 575
Trypsin . . . . . 471 ff.
Übermangansaures Kalium 971
Weinsäure 696
Zentrifuge 377
Jungsches (Thoma) Mikrotom . . . . . 131 ff.

K.

Käfermuskeln 565
Kaiserscher Maskenlack . 218
Kali aceticum . . . . . 210 f.
Kalilauge 452, 460, 572, 579, 587, 696, 820
§§
Kaliumbichromat-Essigsäure 40
Kalium bichromicum . 35, 373
Kaliumhypermanganat . . 364
Kalkreaktion . . 514, 552, 740
Kanadabalsam . . . . . 205 f.
Kapillaren 701
Karmalaun 238
Karminfärbung . . . . 237 ff.
Alaunkarmin 237
Boraxkarmin, alkoh. . . 241
Boraxkarmin, wässer. . 240
Cochenille-Alaun . . . 246
n. Forel 647
n. Gerlach 646
Grenachersche Karmine 237, 240, 241
P. Mayerscher Karmalaun 238
P. Mayers Muzikarmin . 759
P. Mayers Parakarmin . 244
Orths Karmin 462
Schmaus Urankarmin . 648
Karmin-Bleu de Lyon 290, 553
» -Hämatoxylin . . 551
» -Indigokarmin . . 292
» -Osmium-Holzessig . 293
» -Pikrinsäure . . . 295
Karminleim 702
Karyokinesen . . . . 342 ff.
Kehlkopf . . . . . 800 ff.
Keimbläschen 835
Keimepithel 843
Keimzentren 711
Kephalopoden-Knorpel . . 494
Keratohyalinkörner . . . 926 f.
Kern . . . . . 340 ff.
Kernfärbung . . 225 ff., 248 ff., 276 ff.
Kernteilungen . . . . 342 ff.
Kittlinienversilberung 379, 382
Klassifikation d. Teerfarben 272
Kleinenbergs Hämatoxylin 258
Knochen . . . . . 504 ff.
Knochenentwicklung 544, 550, 552
Knochenfärbung . . . 523 ff.
Knochenfibrillen . . 512, 523

§§
Knochengrenzscheiden . . 522
Knochenhöhlen 522
Knochenkörperchen Virchows 549
Knochenmark . 525, 527 ff., 726
Knochenschliffe . . . 532 ff.
Knorpel . . . . . 487 ff.
Knorpelfibrillen 491
Knorpelzellen, verzweigte . 494
Kochsalzlösung physiologische 13
v. Kochsche Methode . . 529
Kockels Fibrinfärbung . . 441
Kohlensaures Ammoniak . 559
Kollacin . . . . . 939 f.
Kollastin . . . . . 939 f.
Kollodieren der Schnitte . 187
Kolloidreaktionen 813
Kolloidsubstanz 813
Kongorot 750, 766, 767
Konservierung 25
Konservierungs-, siehe Fixationsmethoden.
Kontrahierter Muskel . . 567
Korium . . . . . 470, 934 ff.
Korrektion der Überfärbung 226, 253
Korrosionspräparate . . . 707
Kresofuchsin 460
Kreuze Ranviers . . 592, 594
Kristallhalt. Blutkörperchen 438
Kristallviolett 354
Krönigscher Lack . . . 217
Kroneckersche Flüssigkeit 16
Kronthals Schwefelblei . . 663
Kühnesche Goldmethode . 609
» Netze 595
» Trypsinverdauung 471
Künstliche Befruchtung . 865
Kultschitzkys Mark-Methode . . . . . 681 ff.
Kupferbichromat 36
Kupferoxyd-Hämatoxylin . 857
Kurare 444

L.

Labyrinth des Menschen 1008 f.
Lävulose 213

§§
Laichzeit 864, 873
Lantermannsche Segmente 589 f.
Leber . . . . . 774 ff.
» Bindegewebe . . 789 ff.
» Gallenkapillaren . 780 ff.
» Glykogen 797
» Nerven 799
» Sternzellen . . 790, 791
Lebersche Berlinerblaumethode 974
Leberzelle 775
Leidenfrostsches Phänomen 413
Lepkowskys Methode . . 545
Leukozyten . . . . . 405 ff.
Leukozytengranula in Schnitten 432
Linse . . . . . 982 ff.
Linsenfasern . . . 374, 983 f.
Lösung des Eiweißes . . 183
Lösungsmittel für Silbernitrat 831
Löwit-Fischersche Goldmethode 608
Lunge . . . . . 804 ff.
» Respiratorisch. Epithel 806
» Elastische Fasern 808 ff.
Lymphdrüsen . . . . 710 ff.
Lymphe . . . . . 391 ff.
Lymphknoten . . . 711, 768
Lymphspalten-Fettimprägnation 708
» -Einstichinjektion 709
Lysol 89

M.

Magen . . . . . 742 ff.
Magendrüsenzellen . . . 746
Magenta, siehe Fuchsin.
Magenta-Pikroindigokarmin 307
Mallsche Methode . . . 716
Manganoxydbeseitigung . 364
Marchis Methode . . . 687 f.
Markfärbung n. O. Schultze 677
» nach Formolbehandlung 670, 679, 683

§§

Markfärbung in Paraffinschnitten . . 684
Markhaltige Nervenfasern 589 ff., 673 ff.
Marklose Nervenfasern . 603
Martinottische Methode . 938
Mastzellen 420
Material für Muskelvergoldung 613
P. Mayers Karmin . 238, 244
» » Hämalaun . . 249
Mays' Heber 376
Media der Gefäße . . . 696
Mehrfachfärbungen . . . 229, **285** ff., 314
Meißnersche Körperchen 948 ff.
Meißnerscher Plexus . . 773
Merkelsche Flüssigkeit . . 964
Mesenterium 1, 4, 378, 384, 582
Messer für Mikrotome 139 f., 148
Messerhalter 133
Messerschlitten . . 131, 132
Messerstellung . . 148, 159
Metachromasie 274
Methylenazur 428
Methylenazurnachfärbung 427
Methylenblau . . . 384, 422 f. **622**, 639, 640, 730, 757, 997
Methylenblau für Knorpel 490, 503
Methylenblaufixation . **623** ff.
Methylenblauleukobase . 622
Methylenblau-Eosin . . 425 ff.
Methylgrün . . 279, 305, 306, 309, 357, 551
» -Eosin . . . 305
» -Fuchsin S. . 306
» Fuchsin S.-Orange . . . **309**, 404, 429
Methylviolett 538
Mikrometerschraubenschlitten . . . . . 137 f.
Mikrotom . . . . . 129 ff.
Jung (Thoma-Rivet-Brandt) M. . . . 131 ff.
Mikrotommesser 139
Milz . . . . . 710 ff.

§§

Mitochondria 354
Mitosen . . . . . 342 ff.
Modellieren . . . . . 332 ff.
Molybdänsaures Ammonium, Fixierung . . . . . 624 ff.
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure 361
Motorische Nervenendigungen . . . . . 605 ff.
Muchämatein 761
Müllersche Fasern . . . 998
» Flüssigkeit . **37**, 516
Mukosa 743
Mundhöhlenschleimhaut . 727
Muschenkoffs Goldmethode 612
Muskelfibrillendarstellung 563 f.
Muskeln . . . . 374, 556 ff.
Muskelscheibendarstellung 564
Muskel und Sehne . . 571 ff.
Muzikarmin 759
Muzin 757, 762
Myelintropfen 590
Myokard 587

N.

Nase . . . . . 1011 ff.
Natriumhypochlorid . . . 877
Natronfluorid . . 374, 581, 984
Natürliche Färbung . . . 220
Neapler Wasserbad . . . 113
Nebenniere . . . . . 828 ff.
Negros Methode 616
Nelkenöl . . . 168, 201, 233
Nerv . . . . . 589 ff.
Nerven der Epidermis . 958 f.
Nerven der Leber 799
Nervenendigungen 605 ff., 621 947 ff.
Nervenfasern . . . . 589 ff.
Nervenfibrillen 600 ff., 621, 670, 672
Nervensystemisolierung . 627
Netzknorpel . . . 489, 495 ff.
Neunaugenfundstätten . . 863
Neurogliafärbung . . . 688 ff.
Neutrale Teerfarben . . . 272

§§

Neutralrot . . . . . 283 ff.
Neutrophilie 273
Niere . . . . . 815 ff.
Niere, Bindegewebe . . . 826
» Leichenerscheinungen 815
Nigrosin 455
Nißls Hämatoxylinfärbung 269
Nißlsche Körperchen . 638 ff.
Noduli 711, 768
Nucleinspiralen 583
Nuelsche Methode . . . 969

O.

Objektiv 318
Objektschlitten . . 131, 134
Objektträger 2
Objektträger aus Bergkristall 408
» » Quarz . . 408
Objekttisch 315
Objektträgerputzen . . . 176
Öle 99, 124
Ölen des Mikrotoms . . . 145
Oesophagus 741
Ohr . . . . . 1002 ff.
Okular 318
Omentum 1
Onychin 948
Orange 302, 309, 348, 349, 418
Orientieren 116, 118
Orientierungsapparat . . 135
Origanumöl 124, 169
Orzein . . **463**, 721, 765, 809
Orzein, Benda 465
Orzein-Hämatoxylin-Fuchsin S-Pikrinsäure . . . 308
Orzein, Panther 464
Osmiumsäure, s. Osmiumtetroxyd.
Osmiumtetroxyd **46** ff, 381, 399 410, 482, 567, 591, 593, 600, 988
Osmiumtetroxyd als Isolationsmittel 371
Osmiumtetroxyd-Kaliumbichromat 51, 108
Osmiumtetroxyd-Tannin . 685
Ossifikation 550

§§

Ovarien . . . 832 ff., 841 ff.
Oxychromatin 341

P.

Pacinische Körperchen . 955 ff.
Palladiumchlorür . . 577, 703
Palsche Hämatoxylinfärbung 676
Panethsche Zellen . . . 763
Pankreas . . . . . 770 ff.
Pankreatinum siccum . 473 ff.
Papillen der Zunge . . 729 f.
Paraffin . . . . . **94** ff., 215
Paraffinbefreiung . 163 ff., 199
Paraffin-Kanadabalsam . . 216
Paraffindurchtränkung . 98 ff.
Paraffinlösende Flüssigkeiten 99
Paraffinsorten 108
Paraffin, überwärmtes . . 109
Paraffinum liquidum 93, 212, 433
Parakarmin 244
Parallelfaseriges Bindegewebe 449
Pepsinverdauung 596
Perényische Flüssigkeit **81**, 825
Perikard 694
Pflasterepithelien 367
Phlorogluzin 518
Photoxylin 123
Physiologische Kochsalzlösung **13**, 367
Physiologische Selbstinjektion 782, 821
Pigmentzellen . . 4, 220, 353
Pigmentzerstörende Mittel 363 ff., 981
Pikrinessigsäure 890
Pikrinosmiumplatinchlorid-Essigsäure 61
Pikrinsäure **77**, 295, 299, 358, 508, 716
Pikrinsalpetersäure, P. Mayer **78**, 508
Pikrinsaures Ammoniak . 623
Pikrinschwefelsäure, Kleinenberg . **78**, 887, 896, 907

§§

Pikrinsublimat 80
Pikrinsublimatosmiumsäure 62
Pikrokarmin . . . . 287 ff.
Pikromagnesiakarmin . . 286
Pikronigrosin 455
Pilokarpin 733
Pinselmethode 712
Plastische Rekonstruktion 332 ff.
Platinchloridlösung, Rabl . 83
» Osmium-
säure Eisessig . . . 58, 856
Platinchloridsublimat . . 84
Plattenmodelliermethode 332 ff.
Plumbum aceticum . . . 663
» formicicum . . 664
Postmortale Änderungen . 24
Prichardsche Lösung . . 954
Progressive Färbung 226, 271
Projektive Rekonstruktion 331
Protoplasmastrukturen 348, 349
354, 357 ff.
Purkinjesche Fäden . . . 588
Pyrogallussäurereaktion . 740

Q.

Quecksilberchlorid, siehe
Sublimat.
Quergestreifte Muskeln 556 ff.
Querstellung des Mikrotom-
messers 159

R.

Radium 713
Ramon y Cajals Modifi-
kation 657
Ranviers $^1/_3$ Alkohol . . 369
Ranviers Kreuze . . 592, 594
Ranviersche Einschnürun-
gen . . . 589 ff.
» Goldmethode 610
Rasiermesser . . . . . 6 f.
vom Raths Gemische 60, 61, 62
Regressive Färbung . 226, 271
Regulator, s. Thermoregulator.
Reifen des Hämatoxylins . 259
Reifen des Ammoniakkar-
mins 287

§§

Rekonstruktionsmethoden 328 ff.
Remaksche Fasern . . . 603
Reptilieneier . 834, 838, 873 ff.
Respirationsorgane . . 800 ff.
Respiratorisches Epithel . 806
Retikuläres Gewebe 469, 712 ff.
Retikuliertes Gewebe (Mall) 716
Retina . . . . . 986 ff.
Retina belichtet 990
» dunkel 990
» Nervenfibrillen . . 1000
Richtebene 333
Richtfläche 331, 333
Richtleisten 331, 333
Richtlinie 333
Rillentrog . . . . . 235 f.
Ringersche Flüssigkeit . . 754
Rippenknorpel 498
Rolletts Goldmethode . . 566
Rote Blutkörperchen . 391 ff.
» » auf
Schnitten . . . . . 400 ff.
Rote und weiße Muskeln . 568
Rubin S., siehe Fuchsin S.
Rückenmark . . . . 628 ff.

S.

Säugetiereier 836 f., 839 f., 904 ff.
Safranin 276, 348
» -Anilinwasser . . 856
» Gentianaviolett . 856
» -Indigokarmin . . 294
» Pikrinsäure . 276, 295
Salpetersäure 76, 342, 381, 509,
578, 819, 983, 987
Salpetersäure-Silbernitrat 381, 901
Salzsäure 506
» -Chromsäure . . 507
Sarkolemma . . . . . 557 f.
Sarkoplasma 570
Saure Teerfarben 272
Schaltstücke 738
Scharlach R. 484
Scheide 847
Schema für Weiterbehand-
lung des Paraffinschnitts 219

Schema für Durchtränkung 128
Schilddrüse . . . . . 812 f.
Schlaffer Muskel 567
Schleifen . . . . . 532 ff.
Schleimdrüsen . . . . 757 ff.
Schleimfärbung . . . 758 ff.
Schleimgranula 758
Schlittenmikrotome . . . 129
Schlußleistennetz 266
Schmeckbecher . . . . 729 f.
Schmelzpunkt des Paraffins 105
Schnecke . . . . . 1005 ff.
Schneiden brüchiger Objekte 127
Schneiden mit dem Gefriermikrotom 162
Schneiden mit dem Rasiermesser . . . . . 6 f.
Schneiden mit dem Doppelmesser 9
Schneiden mit d. Mikrotom 153 ff., 156
Schneiden von Zelloidinpräparaten 161
Schneiders Karmin . . . 183
Schnittdicke . . . . . 137 ff.
Schnittfärbung 229
Schnittstrecker 154
Schrumpfung bei Fixierung 26
Schüttelmethode 712
Schultzesches Jodserum 15, 370
Schutzleisten der Deckgläschen 836
Schwannsche Scheide . . 597
Schwefelammonium . . . 724
Schwefelbleifärbung . . . 663
Schwefelkohlenstoff . . . 99
Schweflige Säure . . 505, 1007
Sehne . . . . . 449 ff., 471
Sehpurpur 992
Sekretkapillaren . . 737, 747
Selbstinjektion der Gallenkapillaren 782
Sensible Nervenendigungen 947
Serienschneiden 164
Serumalbumin, Klebemittel 184
Sharpeysche Fasern 543, 546 ff.
Sihlersche Methode . . . 617
Silbermethoden 378 ff., 470, 592, 594, 654, 710, 719, 747, 795, 799, 806, 824, 972, 999, 1015
Silbermethode am Spirituspräparat 719, 795
Silbernitrat für Cutis . . 470
Silbernitratgelatine . . . 709
Sklera 978
Speichelkörperchen . . . 728
Speichelröhren . . . . 739 f.
Spermatozoen . . . . 849 ff.
Spiegel am Mikroskop . . 315
Stechapfelform der roten Blutkörperchen 393
Sternzellen . 790, 791, 792, 793
Stöhrsche Goldmethode . 615
Strassersche Klebemasse 334, 881
Stratum corneum 924
» granulosum . . . 926
» lucidum 925
» spinosum . . 929 f.
Ströbes Achsenzylinderfärbung 651
Stückfärbung 229
Stützgewebe des Darms 765 ff.
Sublimat . . 63, 342, 415, 902
Sublimatalkohol 70
Sublimatchromsäure . . . 72
Sublimat-Eisessig . . . 71, 870
Sublimat-Kochsalzlösung 68, 415
Sublimatkristalle 63
Sublimatniederschläge 64 f., 75
Sublimatrohrzucker . . . 69
Sudan 483
Sympathicus 603

T.

Tabelle der Durchtränkungsdauer 110
Tabelle der Mehrfachfärbungen 314
Tabelle der Termini technici 339
Tabelle zur Alkoholverdünnung 20
Taenzer-Unnasche Orzeïnfärbung 463

§§
Tastscheiben . . . . . 960 f.
Teerfarben . . . 271 ff., 276 ff.
Anilinblau . . . 538, 651
Bismarckbraun 280
Bleu de Lyon . . **290**, 553
Dahlia 420, **421**, 490
Eosin . . 296 f., 305, 401 f. 418 f., 551
Erythrosin 645
Fuchsin **281**, 461
Fuchsin S. 299, 306, 309, 358, 423, 454, 455, 497, 716
Gentianaviolett 282, 348, 349, 856
Indulin 418, 419
Kongorot . . 750, 766, 767
Magenta, s. Fuchsin.
Methylenblau 384, 422, 423, **622**, 639, 640, 730, 757, 997
Methylgrün 279, 305, 306, 309, 357, 551
Methylviolett. 538
Nigrosin 455
Orange 302, 309, 348, 349, 418
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin . . . **276**, 342, 348
Thionin . . . 278, 638, 757
Teichmannsche Hämin-kristalle 436
Temperatur von 120° . . 413
Termini technici 339
Tetrajodfluorescein s. Erythrosin.
Thermoregulator 114
Thermostat . . . . . 113 f.
Thiazinrot 562
Thionin 278
Thionin-Eisenalaun . . . 278
Thomasche Entkalkungs-flüssigkeit 519
Thoma-Zeißscher Blutkör-perchen-Zählapparat . . 448
Thrombocyten 431
Thymus 814
Thyreoidea . . . . . 812 f.
Töten der Tiere 3
Toluodinblau . . . **278**, 667
Toluol 99
§§
Trachea . . . . . 800 ff.
Triacidgemisch . . . . . 309 ff.
Trichloressigsäure . . 86, 510
Trichloressigsäureuranazetat 87
Trocknen 18
Trocknen von Kanadabalsam 205
Trophoplasten 754
Trypsinverdauung **471** ff., 714, 767, 931
Tube . . . . . 844 f.
Tubus d. Mikroskops . . 315

U.

Überfärbung 226
Überosmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Überwärmtes Paraffin . . 109
Umdrehungswert der Mikrometerschraube des Jungschen Mikrotoms . . . 137
Umrandung . . . 202, **214** ff.
Umrandungsmassen . . 215 ff.
Unna(-Taenzer)sche Orzeïnfärbung 463
Unterchlorigsaures Natron 676
Urankarmin 648
Ureter 827
Uterus 845
Uterusbindegewebe . . . 849
Uterusnerven 847

V.

Vagina 847
Vanadium-Hämatoxylin . 682
Van Giesonsche Färbung . 299
Vasculosa 979
Vatersche Körperchen 955 ff.
Verdauungsmethode **471** ff., 714, 767
Verdauungsorgane . . 727 ff.
Verdauungsstadien . . 731 f.
Vergoldung **545**, 566, **606** ff., 650, 668, 730, 773, 789, 791, 954, 960 f., 975
s. auch Goldmethoden.
Verkalkter Knorpel . . . 498

§§

Versilberung, siehe Silbermethoden.
Vesuvin 424
Versteinerungsmethode . 529
Vogeleier . . . . 834, 894 ff.

W.

Wachspapierplatten . . . 336
Wasseraufkleben 179
Wasserblau 389
Wasserfreier Alkohol . . 100
Wasserstoffhyperoxyd . . 363
Wärmtischchen 177
Wässerige Boraxkarminlösung 240
Weichteile des Knochens . 525
Weigerts Färbung elastischer Fasern 461 f., 721, 765, 809
Weigertsche Fibrinfärbung 440
» Hämatoxylinmethoden . . . . . 673 ff.
Weigerts Neurogliafärbung 688
Weiße Blutkörperchen . 405 ff.
Weiße Muskeln 568
Weiterbehandlung des Schnitts . . . . . 163 ff.
Schema hierfür 219
Winkel zum Einbetten 115, 333
Woltersscbe Methode . . 682
Wurzelscheiden der Haare 942

§§

X.

Xylol 99, 199

Z.

Zählapparat für Blutkörperchen 448
Zähne . . . . 504 ff., 539 ff.
Zedernholzöl 108
Zeit für Paraffindurchtränkung . . . . . 110 f.
Zellbrücken . . . 386 f., 585
Zelle . . . . . 340 ff.
Zellengranula Altmanns 358 ff.
Zellgrenzen 389
Zelloidin . . . . . 94 ff.
Zelloidindurchtränkung . 97 ff., 119 ff.
Zelloidin-Löslichkeit . . . 124
» -Paraffindurchtränkung . . . . . 125 ff.
Zelloidinschnitte, Aufkleben . . . . . 189 ff.
Zelloidintrockenmethode . 121
Zelloidinurlösung 119
Zenkers Gemisch 73
Zentrifuge 377
Zentrosomen . 348, 352, 856
Zerkleinerungsmaschine . 10
Zotten 755
Zupfen 5, 450
Zusatzflüssigkeiten . . . 11 ff.

F. Sartorius, Vereinigte Werkstätten für wissenschaftliche Instrumente

von F. Sartorius, A. Becker und Ludwig Tresdorpf · **Göttingen (Hann.)**

Abt. III.

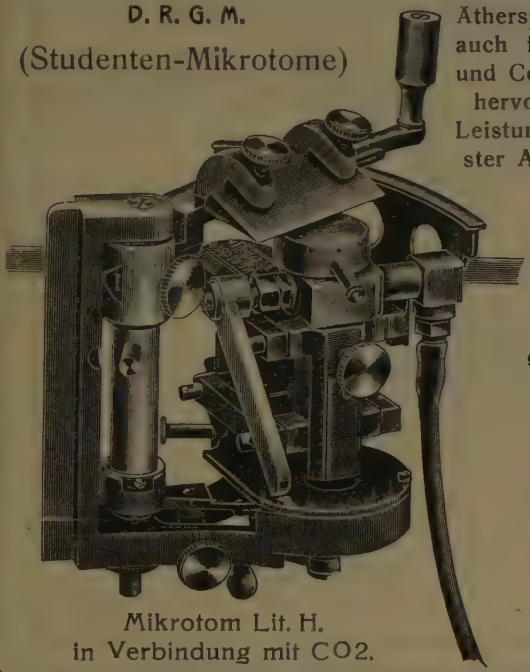
Aug. Beckers Mikrotome
und Nebenapparate.

Gehirn-Mikrotome von bis jetzt nicht erreichter Leistung.

Neueste Gefrier-Mikrotome für Kohlensäure und Ätherspray, sowie auch für Paraffin und Celloidin von hervorragender Leistung u. sauberster Ausführung.

D. R. G. M.

(Studenten-Mikrotome)



Mikrotom Lit. H.
in Verbindung mit CO_2.

Preislisten
(deutsch, englisch und französisch)
gratis u. franko.

Vertreter
an
allen größeren Plätzen im In- und Auslande.

(2)

ZEISS

MIKROSKOPE

für alle wissenschaftlichen und technischen Untersuchungen.

Mikrophotographische Apparate
f. sichtbar. u. ultraviolettes Licht
Projektionsapparate, Epidiaskop
Einrichtung zur
Sichtbarmachung
ultramikroskopischer Teilchen.
Heizmikroskope.

Literatur über
Dunkelfeldbeleuchtung mit
Paraboloid
Kondensor
sowie
Kataloge M. 2
gratis
und franko.

(4)

Berlin
Frankfurt a. M.
Hamburg

CARL ZEISS
JENA

London
St. Petersburg
Wien.

R. JUNG, HEIDELBERG

empfiehlt **Instrumente und Apparate für Mikroskopie und Mikrotomie** besonders

MIKROTOME

verschiedener Form und Größe

in anerkannt bester Ausführung. — Mikrotome nach Thoma. Tauchmikrotome bis zu Präparaten von 21 cm Durchmesser. Schaukelmikrotome. Neues Heidelberger Mikrotom, Modell H. Tetrander, automatisches Mikrotom für trocken zu schneidende Präparate, konstruiert auf Veranlassung und unter Mitwirkung der Zoolog. Station in Neapel. Neues Gefriermikrotom für Kohlensäure, Modell C. (1)

Kleines, sogen. **Studentenmikrotom** für Gefrier- und Paraffinpräparate mit allem Zubehör von M. 28.— an, mit automatischer Einstellung der Schnittdicke zu M. 42.—. Letzteres ist in den meisten Univ. Instituten in Gebrauch.

Gefriervorrichtungen für Schwefeläther, flüssige Kohlensäure, Äthylchlorid oder Anästhol. Neuere Stud. Mikr. Modell B, auch für kleine Celloidinpräparate brauchbar. Die Herstellung lückenlos. Serienschnitte gelingt mit unserem Studentenmikrotom sofort auch dem Ungeübten.

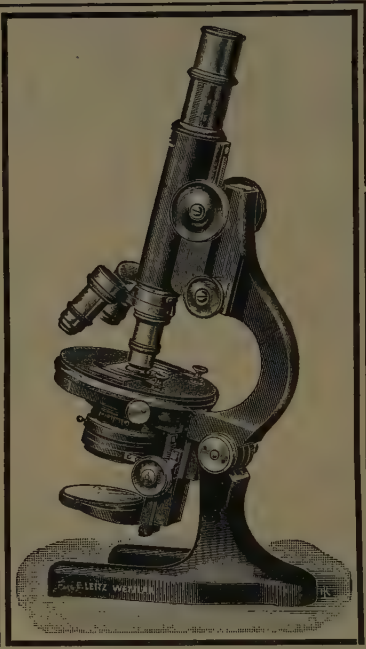
Preisverzeichnis kostenfrei.

E. LEITZ · WETZLAR

Berlin N. W.
Luisenstr. 45

St. Petersburg

New York



Frankfurt a. M.
Neue
Mainzerstr. 24

London

Chicago

(3)

Mikroskope
Mikrotome

über 100 000 Leitz-Mikroskope im Gebrauch.

Mikrophotographische und Projektions-Apparate.

Photograph. Objektive. Prismen-Feldstecher.

Kataloge auf Verlangen gratis.

Vertretung für München:

Dr. A. Schwalm, München, Sonnenstr. 10.

Otto Himmler

: Optisch-mechanische Werkstätte :

Oranienburger-
:: strasse 65 ::

Berlin N.

Oranienburger-
:: strasse 65 ::

SPEZIALITÄT:

Mikroskope

nur Ia Qualität.

(5)

Preisliste gratis und franko.

Gegründet 1877.

Optische Werke

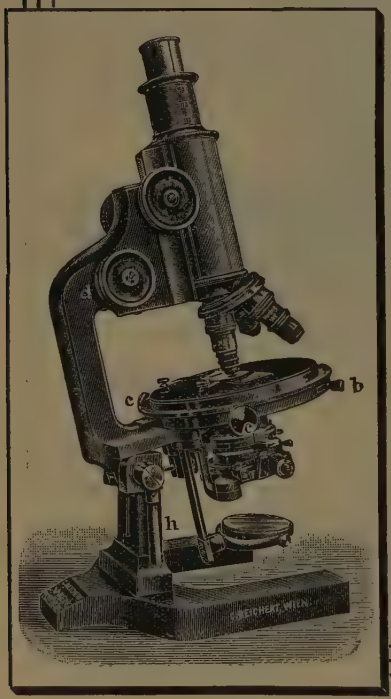
C. REICHERT, WIEN

VIII. Bennogasse 24 u. 26

BUDAPEST VIII. Üllöi utca 12 sz.

Spezialität: (6)

„Mikroskope“



in mustergiltiger Ausführung, sowie alle mikroskopischen Hilfsapparate

Mikrotome

Haemometer

Projektions- und Polarisations-Apparate

Photograph. Objektive

Neu-

Kombinar F: 6,8 u. 4,8;

Solar F: 6,8; Polar F: 4,0

Kataloge frei auf Verlangen.

Bakterien-Mikroskop Nr. 6

mit 3 Systemen 4,7 und **Oelimmersion, Abbeschem Beleuchtungsapparat,** Vergrößerung 30—1400 linear **154.— Mark,** mit Irisblende **165.— Mark.**

Universal-Mikroskop Nr. 5

mit 3 Systemen 4,7 und **Oelimmersion, Abbeschem Beleuchtungsapparat,** Objektiv und Okular-Revolver, Vergrößerung 45—1400 linear **210.— Mark,** mit Irisblende **220.50 Mark.** (7)

Trichinen-Mikroskope in jeder Preislage

Neueste Kataloge und Gutachten kostenlos.

ED. MESSTER, Berlin NW. 6

:: Gegründet 1859 :: Schiffbauerdamm 18.

Verlag von R. Oldenbourg in München u. Berlin

Leitfaden für die chemische Untersuchung von Abwasser. Von Dr. **K. Farnsteiner,** Dr. **P. Buttenberg,** Dr. **O. Korn,** Chemiker am Hygienischen Institut zu Hamburg. VI und 66 Seiten. gr. 8°. Preis M. **3.**—.

Das Werkchen bringt die als zuverlässig am besten bewährten Verfahren zur chemischen Untersuchung von Abwassern, sowohl in rohem Zustande als auch nach erfolgter Reinigung, wobei die Verfasser ihre am Hamburger Hygienischen Institute gesammelten Erfahrungen zugrunde legen. Bei der Bedeutung der englischen Literatur für die Abwasser-Untersuchung ist es zu begrüßen, daß auch einige der hauptsächlichsten englischen Untersuchungsmethoden hier den deutschen Fachkreisen näher gebracht werden. **Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel.**

Gesundheits-Ingenieur. Zeitschrift für die gesamte Städtehygiene. Organ der Vereinigung der Verwaltungsingenieure des Heizungsfaches. Herausgeg. von **E. v. Böhmer,** Reg.-Rat im Kais. Patentamt, Prof. Dr. **Dunbar,** Direktor des Staatl. Hyg. Inst. zu Hamburg, Geh. Reg.-Rat **Herm. Harder,** Berlin, Geh. Reg.-Rat Prof. **Proskauer,** Dir. d. Untersuchungsamtes f. hyg. u. gewerbl. Zwecke d. Stadt Berlin, **K. Schmidt,** Stadtbauinspektor, Vorstand d. Bauinsp. f. Heiz- u. Lüftungswesen d. Stadt Dresden. Jährlich 52 Nummern. Preis für den Jahrgang bei direkter Zusendung M. **26.**—; halbjährlich M. **13.**—.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von R. Oldenbourg in München u. Berlin

Archiv für Hygiene. (Begründet von **Max v. Pettenkofer.**) Unter Mitwirkung der namhaftesten Hygieniker herausgegeben von **J. Forster, M. Gruber, Fr. Hofmann, M. Rubner,** o. ö. Professoren der Hygiene und Direktoren der hygienischen Institute an den Universitäten zu Straßburg i. E., München, Leipzig, Berlin. Preis für den Band von 4 Heften M. 15.—.

Zeitschrift für Biologie. Herausgegeben von **C. Voit,** o. ö. Professor der Physiologie in München.
Preis für den Band von 4 Heften M. 20.—.

Leitfaden der Hygiene für Techniker, Verwaltungsbeamte und Studierende dieser Fächer. Von Professor **H. Chr. Nußbaum** in Hannover. 612 Seiten gr. 8°. Mit 110 Textabbildungen. In Leinwand geb. Preis M. 16.—.

Es ist bemerkenswert, daß es in unserer an hygienischen Händ- und Lehrbüchern so reichen Zeit bisher noch an einem Werk gefehlt hat, welches den Studierenden der technischen Hochschulen speziell zu einem Führer auf hygienischem Gebiet zu sein bestimmt war, und es ist deshalb schon aus diesem Grunde mit Freuden zu begrüßen, daß nunmehr in dem Nußbaumschen Leitfaden ein solches Werk vorliegt. Daß Nußbaum zum Verfasser desselben der Berufensten einer war, wird a priori wohl allseitig zugegeben werden, hat er doch in zahlreichen Schriften gezeigt, daß er das Fach gründlich beherrscht und es fruchtbringend weiter auszugestalten vermag. **Hygienische Rundschau.**

Zur Frage der Stellung der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze im System. Die Entstehung von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen aus Algenzellen. Von Professor **Dr. Dunbar,** Direktor des Staatl. Hygien. Institutes in Hamburg. Mit 3 Textabbildungen und 5 mikroskopischen Tafeln.
Preis M. 5.—.

Auf Grund langjähriger experimenteller Versuche führt Professor Dunbar erstmals in diesem Werke den unwiderleglichen Beweis, daß **Bakterien, Hefen und Schimmel nicht selbständige Organismen sind, sondern höheren Pflanzen entstammen, und zwar dem Entwicklungskreis grüner Algen angehören.**

Die große und vielumstrittene Frage über Entwicklung und Abstammung der Bakterien ist somit in ein neues Stadium getreten, denn mit der Veröffentlichung der Arbeiten Dunbars darf wohl angenommen werden, daß diese einen ungeheueren Umschwung unserer gegenwärtigen Anschauungen über die Möglichkeit der Transformation von einem Organismus in einen anderen — selbst bei den niedersten Organismen — herbeiführen werden.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

HC 2MSU P

3.J.97.
Taschenbuch der mikroskopischen1908
Countway Library BDK9386
3 2044 045 421 625

4.12

3.J.97.
Taschenbuch der mikroskopischen1908
Countway Library BDK9386
3 2044 045 421 625